UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

ZEITSCHRIFT
FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND
VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET
VON
H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN · G. MELCHERS
F. OEHLKERS · K. PÄTAU · H. STUBBE

84. BAND 4. HEFT
MIT 58 TEXTABBILDUNGEN
UND 1 KARTE
(ABGESCHLOSSEN AM 17. SEPTEMBER 1952)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1952

Z. Vererbungslehre

Preis DM 36.60

Die **„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind *unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung* an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,

Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,

Professor Dr. Alfred Kühn, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, Spemannstraße 34,

Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,

Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,

Professor Dr. Klaus Pätau, Department of Botany, Biology Building, University of Wisconsin, Madison 6 Wis. USA.,

Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Dessau), Institut für Kulturpflanzenforschung.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,*

alle die Zeitschrift betreffenden geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag, (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,*

zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:

G. Melchers
H. Stubbe

Berlin W 35
Reichpietschufer 20
Fernsprecher: 24 92 51

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 41—45 Neal Street, London W. C. 2

Inhaltsverzeichnis auf Seite III

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 84, S. 251—269 (1952).

ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE UNTERSUCHUNG DER DURCH DIE FAKTOREN *fr* UND *ster* BEDINGTEN POLLENSTERILITÄT BEI *OENOTHERA*.

Von

CORNELIA HARTE und BRIGITTE BISSINGER*.

Mit 14 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Januar 1952.)

A. Einleitung.

Die Pollensterilität ist innerhalb der Gattung *Oenothera* eine verbreitete Erscheinung, die bereits seit langem bekannt ist. In der Gattung gibt es mehrere pollensterile Formen, deren genetische Grundlage aufgeklärt werden konnte. Hierzu gehört die durch Trisomie für ein bestimmtes Chromosom verursachte Sterilität der *Oe. Lamarckiana mut. lata* (zuerst POHL 1895) und die durch Homozygotie für das Gen *fr* bedingte Pollensterilität, die in der F_2 aus Kreuzungen mit dem Komplex *stringens* aus *Oe. strigosa* auftritt (OEHLKERS 1923, 1926, OEHLKERS und HARTE 1943). Die Entwicklungsgeschichte beider Formen wurde bereits von OEHLKERS (1927) bearbeitet.

Bei der Untersuchung von Spaltungen weiterer Komplexkombinationen wurde von HARTE (1948) ein neuer Pollensterilitätsfaktor gefunden, *sterilis* aus dem Komplex *velans* der *Oe. Lamarckiana brevistylis* FREIBURG, der gleicherweise wie *fr* bei Homozygotie der Mutterpflanze für *ster/ster* die in den Antheren einer solchen Pflanze entstandenen Gonen zum Absterben bringt. An den vollentwickelten Blüten sind die beiden Pollensterilen *fr/fr* und *ster/ster* nicht zu unterscheiden. Die Antheren sind völlig leer, kollabiert und öffnen sich nicht.

Es ist nun Aufgabe vorliegender Arbeit, in gleicher Weise wie dies von OEHLKERS für *fr/fr* und *Oe. Lamarckiana lata* getan wurde, die entwicklungsgeschichtliche Auswirkung des neuen Sterilitätsfaktors *ster* zu untersuchen. Durch Vergleich mit *fr/fr*-Homozygoten soll dabei festgestellt werden, wann und wo die beiden Faktoren in die Entwicklung der Antheren und der Pollenkörner eingreifen, unter besonderer Berücksichtigung der Frage, ob die Wirkungsweise von *fr* und *ster* identisch ist oder ob sich hierin eine Differenz zeigt. Weiterhin soll untersucht werden, ob sich der Faktor *fr* des Komplexes *stringens* in Verbindung mit *hHookeri* im Plasma von *Oe. Hookeri* und zum andern mit *flavens* im Plasma von *Oe. suaveolens sulfurea* verschieden auswirkt oder nicht. Für die Normalentwicklung der Antheren von *Oenothera* wurde Material einer pollenfertilen Geschwisterpflanze der *ster/ster*-Homozygoten herangezogen. Im übrigen sei auf die Untersuchung von BEER (1906) verwiesen.

B. Material und Methode.

Die Untersuchung wurde an Hand von Quer- und Längsschnittpräparaten von verschieden alten Antheren durchgeführt.

* Unter Verwendung einer Staatsexamensarbeit von B. BISSINGER. Die darin enthaltenen Zeichnungen und Mikrophotographien der vollständigen Entwicklung der beschriebenen Formen konnten aus Platzmangel nur zum Teil in die vorliegende Publikation übernommen werden.

Das Material stammte aus folgenden Kreuzungen:

1. *Oe. (Hookeri* × *Lamarckiana brevistylis* Freiburg) *^{h}Hookeri · velans* F_3, pollensteril *ster/ster* und pollenfertil + *ster/...*

2. *Oe. (Hookeri* × *strigosa) ^{h}Hookeri · stringens* F_2, pollensteril *fr/fr.*

3. *Oe. (suaveolens sulfurea* × *strigosa) flavens · stringens* F_2, pollensteril *fr/fr.*

Fixierungsmittel Bouin-Cleland, Paraffineinbettung. Schnittdicke der untersuchten Präparate: Längsschnitte 12 μ und 15 μ, Querschnitte 10 und 12 μ. Die Färbung der vier Objekte wurde ausgeführt mit 1. Gentianaviolett + Orange G (Gegenfärbung), 2. Heidenhains Eisenhämatoxylin, 3. Hämalaun nach P. Mayer. Die drei Färbemethoden wurden angewandt, um die Möglichkeit einer unterschiedlichen Anfärbung verschiedener Zellelemente nachzuprüfen. Doch, wie auch an Hand der Mikrophotographien ersichtlich, ergeben sich hierbei keine prinzipiellen Unterschiede. Wo solche auftreten, wird besonders darauf hingewiesen. Eine durchweg gute Anfärbung mit Hämalaun konnte nur bei *Oe. (^{h}Hookeri · stringens)* erzielt werden. *Oe. ^{h}Hookeri · velans* fertil und steril und *Oe. flavens stringens* zeigten nur in jungen Stadien eine Affinität zu Hämalaun. Auch gegenüber Eisenhämatoxylin unterscheiden sich die Objekte etwas, indem sich *Oe. ^{h}Hookeri · velans* gegenüber den drei anderen, besonders was das Tapetum anbelangt, nur sehr schwer differenzieren läßt. Die beste Anfärbung ergab in jedem Fall Gentianaviolett + Orange G. Die hiermit angefertigten Präparate wurden für die Zeichnungen verwendet, für die Mikrophotographien daneben auch Eisenhämatoxylinpräparate.

Optik für Zeichnungen: Monokulares Winkel-Zeiß-Stativ, Objektiv 42×, Okular 12×. Busch Zeichenprisma, Zeichnung in Objekttischhöhe. Optik für Mikrophotographien: Winkel-Zeiß-Standardmikroskop, Objektiv 10×, Okular 12×, Busch-Aufsatzkamera. Film: Persenso 6×9. Papier: Vergrößerungen Brovira extrahart, Kontaktabzüge Agfa Lupex normal. — Ein Vergleich mit dem Meßobjektiv ergibt als Vergrößerung für den Film 1:80, für die Abzüge mittels Vergrößerungsapparates 1:160. Photographie zu Originalzeichnung = 1:4,7. Die Zeichnungen wurden beim Druck auf $^{1}/_{2}$, $^{2}/_{3}$ oder $^{3}/_{5}$ verkleinert, wie jeweils bei den einzelnen Abbildungen angegeben ist.

C. Ergebnisse.

1. Oe. (^{h}Hookeri · velans) F_2, pollensteril ster/ster.

Im jüngsten untersuchten Stadium ist das Tapetum bereits 2—3kernig. Die PMZ liegen wie gewohnt im Verband, die Wand zwischen ihnen und der Epidermis ist vierschichtig (Tapetum, zwei mittlere Wandschichten, Faserschicht) (Abb. 1).

Bei *Oe. ^{h}Hookeri · velans* verläuft nach Harte (1948) die Meiosis normal, die Tetraden werden vollkommen richtig gebildet und liegen, anfangs noch von der PMZ-Membran umschlossen, frei im Pollenfach. Bei dieser Art fallen im Pollen um den Kern stark lichtbrechende Körner, vermutlich Stärke, auf.

Die jungen Pollen werden frei, wachsen heran und ihre drei Austrittstellen werden normal ausgebildet. Zwischen den Pollen, in denen wiederum die Stärke auffällt, die die Kerne mit den schwach gefärbten Nukleolen nahezu verdeckt, finden sich hier faserig-körnige Auflösungsprodukte der PMZ-Membranen. Die Tapetenzellen sind in diesem Stadium sehr plasmareich, so daß die Kerne relativ schlecht zu erkennen sind. Die Pollenkörner wachsen noch erheblich heran, ehe die Degeneration einsetzt (Abb. 2). Diese greift die Pollen von außen an. Es werden zunächst die Exine und die vorgebildeten Austrittstellen des Pollenschlauchs aufgelöst, sodann die Pollenmembran, während der Kern mit dem nun wieder stark färbbaren, etwas vergrößerten Nukleolus, umgeben von der Stärke, noch wohlerhalten im Zellraum liegt. Der Protoplast bildet einen nur relativ dünnen Wandbelag, ein Zustand, den auch Beer in der Normalentwicklung antraf. Das Degenerat, das die Pollen umgibt, besteht aus einem schwammartig

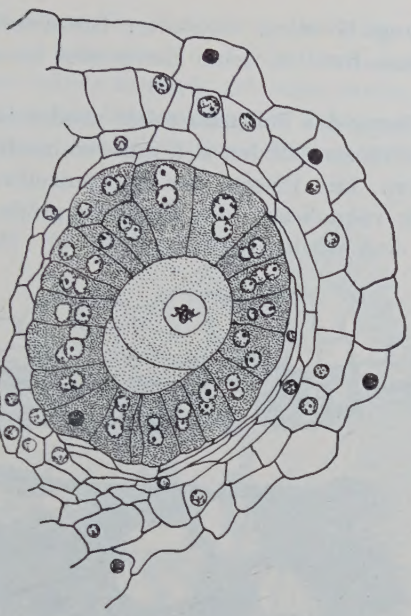


Abb. 1. *Oe.* ^{h}*Hookeri · velans ster/ster.* Junge Anthere quer. Tapetum 2—3kernig. $^{2}/_{3}$.

Abb. 2. *Oe.* ^{h}*Hookeri · velans ster/ster.* Pollenfach längs. Weiter fortgeschrittene Degeneration des Pollenmaterials. Tapetenzellen und -kerne angeschwollen. Zellen deutlich begrenzt. Faserschicht erkennbar. $^{2}/_{3}$.

aufgebauten, mit Orange G stark färbbaren Gitterwerk. Das plasmareiche Tapetum ist etwas angeschwollen, seine Kerne sind manchmal nur undeutlich sichtbar.

Im Zuge der Auflösung des Pollenmaterials werden endlich auch die Kerne angegriffen; in den Zellräumen finden sich nur vereinzelt noch solche mit stark vergrößerten Nukleolen. Das Plasma der Tapetenzellen, die sich weiter vergrößern, ist nun stark vakuolisiert, die Kerne vergrößert, die Charakteristika eines Drüsengewebes sind wieder realisiert (Abb. 3). Die besonders jetzt mit

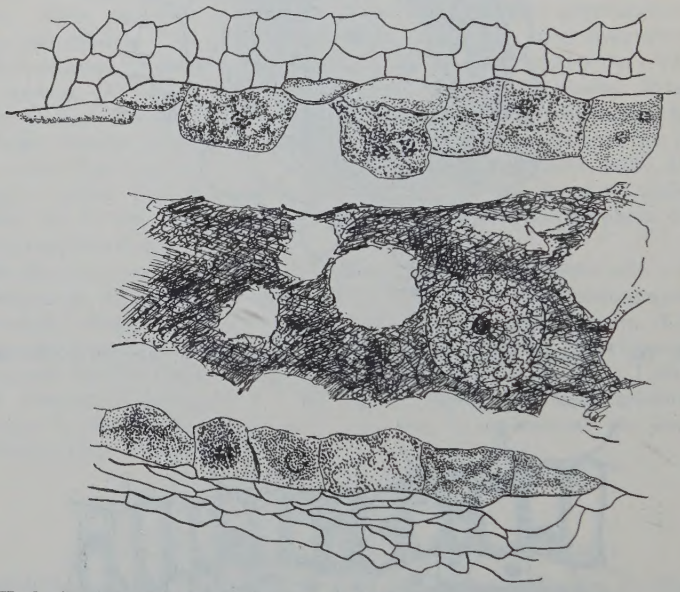


Abb. 3. *Oe.* ^{h}*Hookeri · velans ster/ster.* Pollenfach längs, Degenerat mit Hohlräumen. Auflösung der Kerne der Tapetenzellen. $^{2}/_{3}$.

Eisenhämatoxylin stark anfärbbaren, angeschwollenen Kerne der Tapetenzellen werden in den Konturen undeutlich und verlieren die kugelige Form, was wohl als Beginn einer Auflösung gewertet werden darf. In diesem Stadium wird der Kohäsionsmechanismus der Faserschicht erstmals deutlich sichtbar. Nun werden auch die Kerne der Pollen völlig aufgelöst; der Protoplast geht in das Degenerat ein, und wo einst die Pollen lagen, finden sich Hohlräume in der schwammigen, verdichteten Masse, die das Pollenfach durchzieht. Die Kerne der Tapetenzellen sind unterdessen auch degeneriert, vom Kernmaterial sind nur noch schwach gefärbte Trümmer übrig, und nur selten trifft man noch auf große, angeschwollene Kerne (Abb. 4). Im Verlauf der Auflösung scheint der Inhalt des Pollenfachs resorbiert zu werden. Die schwammige, von Hohlräumen durchsetzte Masse wird jedenfalls lockerer und schwächer färbbar mit Orange G.

Unterdessen haben sich die Tapetenzellen, besonders in ihrer Längsausdehnung, stark vergrößert und springen papillenartig in das Innere des Pollenfaches vor. Ihre ehemaligen Kernräume sind leer, zum Teil von vakuolisiertem Plasma dicht umgeben. Beachtenswert ist, daß sich die Tapetenzellen schließlich von den mittleren Wandschichten trennen, indem ihre durch die Aufblähung stark ge-

dehnte und somit sehr dünne Wand sich von diesen her auflöst (Abb. 5). Eine lokale Durchbrechung der Innenwand mit folgendem Austritt des Protoplasten konnte bei *Oe. ^{h}Hookeri · velans* nirgends gefunden werden. Dasselbe Pollenfach enthält verschiedene Degenerationsstadien der Tapetenzellen, dieselbe Anthere hinsichtlich der Auflösung verschieden weit fortgeschrittene Pollenfächer. Die

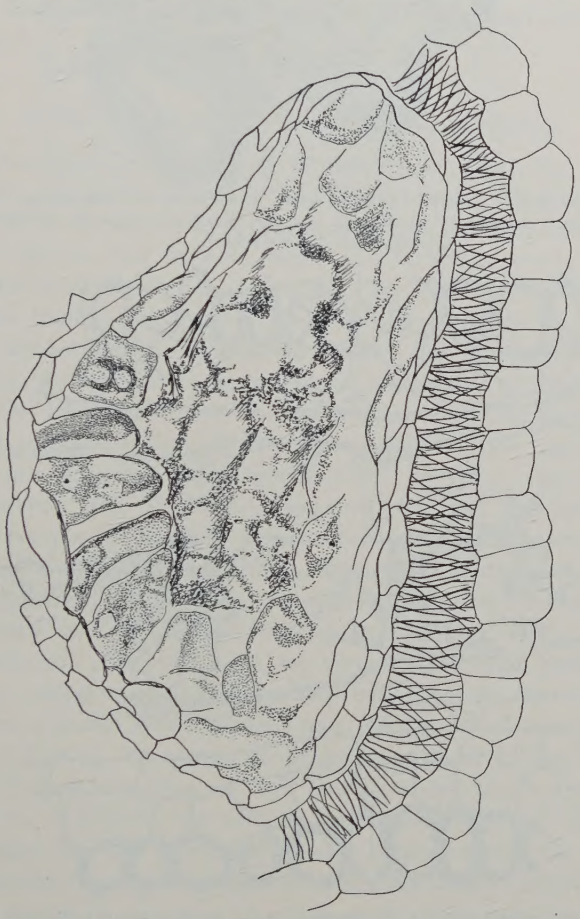


Abb. 4. *Oe. ^{h}Hookeri · velans ster/ster.* Pollenfach quer. Auflösung der Tapetenzellen von den Wandschichten her. $^{1}/_{2}$.

Zellen der mittleren Wandschichten sind durch die Volumvergrößerung der Loculi erheblich gestreckt. Der Inhalt des Pollenfaches wird immer mehr aufgelockert und mengenmäßig weniger, muß also resorbiert werden. Die Wände der Tapetenzellen, größtenteils noch mit einem Plasmabelag versehen, fallen zusammen und bilden einheitliche freie Streifen, die das Pollenfach zu beiden Seiten des Degenerates durchziehen. Die Aufblähtendenz greift dann auf die mittleren Wandschichten über, deren Zellen ihr Volumen wesentlich vergrößern (Abb. 6). Ein Querschnitt ergibt, daß die Loslösung der Tapetenzellen auf gleicher Höhe des Pollenfaches gleichartig erfolgt, so daß die stark angefärbten Reste der Tapetenzellen als dunkler, freier Ring im Loculus liegen (Abb. 7). An

Abb. 5. *Oe.* ^{h}*Hookeri · velans ster/ster.* Anthere quer. Resorption des Degenerats. Tapetenzellen zum Teil stark vergrößert. Auflösung ihrer Wände von den Wandschichten her. Verschiedene Stadien in den einzelnen Pollenfächern.

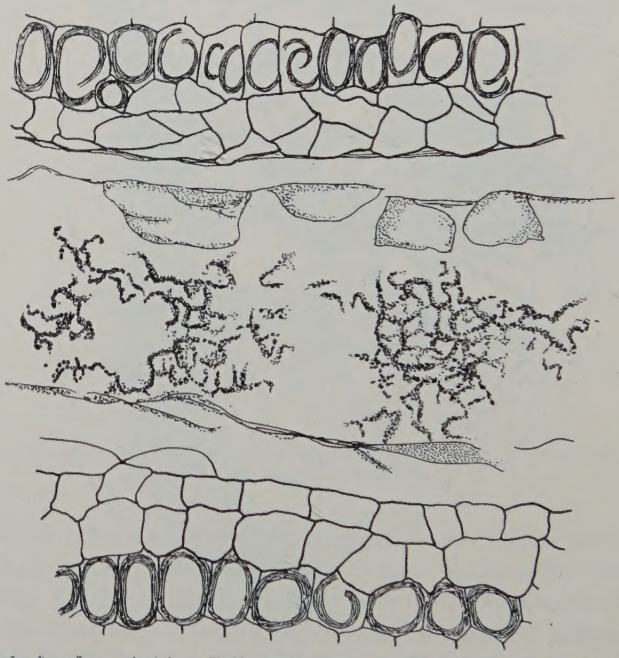


Abb. 6. *Oe.* ^{h}*Hookeri · velans ster/ster.* Pollenfach längs. Auflösung der Tapetenzellen fast beendet, Degenerat aufgelockert. $^{2}/_{3}$.

Abb. 7. *Oe.* ^{h}*Hookeri · velans ster/ster.* Anthere quer. Degenerat fast ganz resorbiert, Reste der Tapetenzellen als losgelöster Ring im Pollenfach. Mittlere Wandschichten zum Teil angeschwollen (Gentianaviolett).

ihn lagert sich der nichtresorbierte Rest des Degenerates an, so daß die Mitte des Faches völlig leer erscheint. Schließlich klappt der Ring zusammen, die Tapetenreste vereinigen sich in der Mitte des Pollenfaches, wobei einzelne Zellgrenzen zum Teil noch zu erkennen sind, und die mittleren Wandschichten degenerieren dem Tapetum vergleichbar. Als einheitlicher Strang durchzieht der Überrest der Tapeten- und Wandzellen das Pollenfach. An der Faserschicht macht die Degeneration halt.

2. Oe. (^{h}Hookeri · stringens) F_2, pollensteril fr/fr.

In jungen Knospen finden sich die Pollenmutterzellen, die, ein- oder zweireihig angeordnet, als fester Gewebeverband die Antheren längs durchziehen. Die Kerne sind als heller Raum im Zytoplasma sichtbar, die einzelnen Chromosomen sind in frühen Stadien der Meiosis durch die Fixierung etwas verklebt. Das Tapetum ist zunächst einkernig, jedoch ist eine gewisse Anzahl der Kerne in Teilung begriffen (Abb. 8). Es sind 1—2 deutlich gefärbte Nukleolen vorhanden. In diesem und den folgenden Entwicklungsstadien der Tapetenkerne ist an deren Wand feinkörnig verteilte Chromatinsubstanz angelagert, die in älteren Kernen verschwindet. Die PMZ sind durch vier Zellschichten von der Epidermis getrennt (Tapetum, zwei mittlere Wandschichten, Faserschicht). Sie wachsen nun noch im Verband heran, während das Tapetum zwei- bis drei-, zum Teil vierkernig wird. Dann trennen sich die beiden Gewebearten. Bei Konfigurationsbestimmungen wurde festgestellt, daß die Meiosis bis zur Tetradenbildung normal verläuft (Harte 1948). Die Tetraden sind auch in diesem Material noch vollkommen normal. Sie liegen frei im Pollenfach und sind zunächst von der dicken Membran der PMZ umgeben. Die Kerne sind deutlich zu erkennen, und es fällt in diesem Stadium erstmals auf, daß etwa 10% der Gonen statt eines großen zwei kleine Kerne enthalten. Dies muß wohl einer Fehlverteilung der Chromosomen in der Meiosis bei dieser Pflanze zuzuschreiben sein, die bei dem Vorhandensein zweier Viererringe bei ^{h}*Hookeri · stringens* sehr leicht möglich ist. Diese Mehrkernigkeit läßt sich vom Tetradenstadium bis zur Degeneration der Pollenkörner durchgehend verfolgen. Während des Ablaufs der Meiosis und der Entstehung der Tetraden vermehrt sich der Plasmagehalt der Tapetenzellen, die sich schließlich voneinander trennen und nun einzeln in das Pollenfach vorspringen (Abb. 9).

Die jungen Pollen werden nach Ausbildung der drei charakteristischen Austrittstellen für den Pollenschlauch aus der Membran der PMZ frei, d. h. diese löst sich von ihnen und zerfällt. Die Tetraden liegen zunächst noch vereinigt im Pollenfach, ehe die Pollen sich einzeln aus dem Viererverband lösen. Anfangs finden sich die Reste der PMZ-Membran und deren Mittellamelle noch als feinverteilte, körnig-fädige Masse in der Umgebung der Tetraden, wie dies bei der normalen Entwicklung auch der Fall zu sein pflegt und bereits von Beer (1906) beobachtet wurde. Die Trennung der Pollenkörner ist weder in der ganzen Knospe noch in einer Anthere, selbst nicht in einem Pollenfach synchron. Sie schreitet von der Spitze der Anthere zu deren Basis fort. So fanden sich z. B. einmal in der Basalregion Tetraden, in der Spitzenregion des gleichen Pollenfachs junge Pollen. Die Tapetenzellen sind in diesem Stadium ebenfalls völlig normal, d. h. zeigen Form, Plasmadichte und Größe der Normalentwicklung.

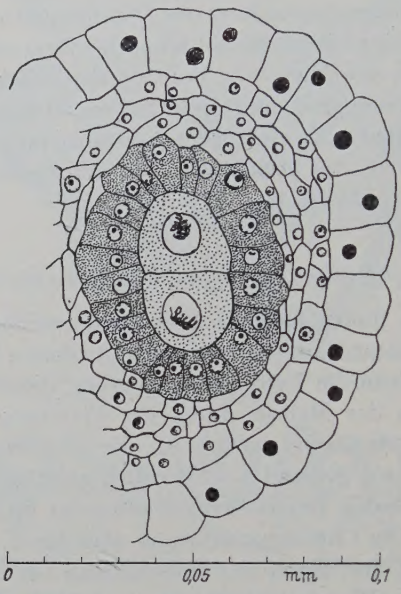


Abb. 8. *Oe.* $^{h}_{a}$*Hookeri · stringens fr/fr.* Pollenfach quer, sehr jung. Tapetum noch einkernig. $^{2}/_{3}$.

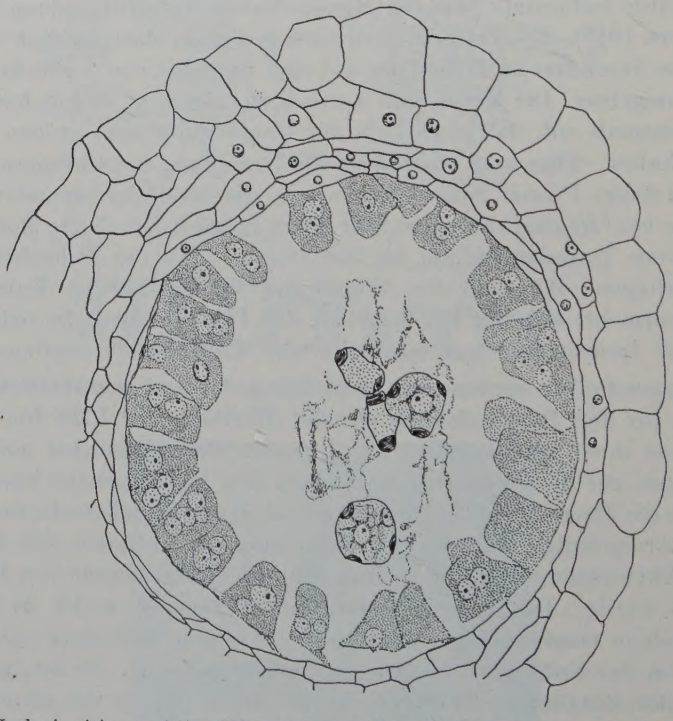


Abb. 9. *Oe.* ^{h}*Hookeri · stringens fr/fr.* Pollenfach quer, junge Pollenkörner in beginnender Auflösung, fädige Reste der PMZ-Membran im Pollenfach, Tapetenzellen mehrkernig, deutlich begrenzt, voneinander gelöst. $^{3}/_{5}$.

Entsprechend den verschiedenen Entwicklungsstadien setzt nun auch die Degeneration nicht synchron ein. Die einzelnen Pollenfächer enthalten Tetraden, Einzelpollen und bereits degeneriertes Material. Allmählich vergrößern die Tapetenzellen ihr Volumen, auch ihre Kerne werden relativ groß. Die Degeneration greift nicht sofort an allen Pollenkörnern an. Diese wachsen zum Teil ein gutes Stück heran, vergrößern ihre Austrittstellen und erhalten so noch die

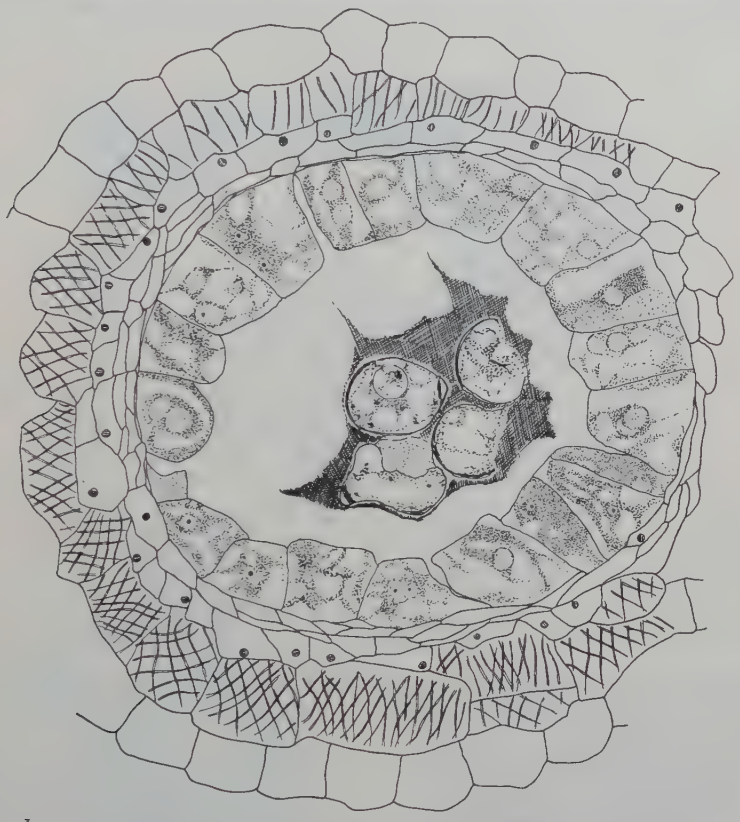


Abb. 10. *Oe.* ^{h}*Hookeri · stringens fr/fr.* Pollenfach quer, degenerierende Pollenkörner in homogener Masse, Tapetenzellen und -kerne angeschwollen. $^{3}/_{5}$.

Gestalt normal ausgebildeter, später fertiler Pollen. Daß sich das Zytoplasma in diesem Stadium stark vakuolisiert und von der Pollenwand ablöst, ist durchaus eine normale Erscheinung, wie der Vergleich mit dem entsprechenden Stadium der Normalentwicklung zeigt (Beer 1906). Die Nukleolen werden hier wieder stärker färbbar als in den vorhergehenden Stadien, ebenso die der Tapetenzellkerne, deren Zytoplasma ebenfalls vakuolisiert (Abb. 10 und 11). Nun setzt die Degeneration in vollem Umfang ein. Sie greift zunächst die vorspringenden Austrittstellen der Pollen an und löst diese auf. Außer dem Nukleolus treten im Zytoplasma der degenerierenden Pollen stärker anfärbbare Körner als Degenerationsprodukte auf. Dieselbe Erscheinung findet sich beim Tapetum. Gleichzeitig schwellen die Tapetenzellen stärker an. Das Pollenmaterial wird immer weiter aufgelöst. In einem Stadium, in dem der Kohäsionsmechanismus der

Faserschicht erstmals deutlich sichtbar wird, liegen die Überreste der Pollenkörner in einer homogenen, mit Orange G stark anfärbbaren Masse. Ob diese nur als Degenerat zu werten ist, oder ob daran im wesentlichen Sekrete des Tapetums beteiligt sind, läßt sich nicht exakt aussagen. Es ist jedoch letzteres anzunehmen, denn es ist augenscheinlich, daß das Tapetengewebe in diesem Stadium besonders intensiv als Drüsengewebe funktionieren kann. Alle Merkmale eines sezernierenden Gewebes wie starke Zellvergrößerung, Dünnwandigkeit, große Zellkerne sind gerade in dem Augenblick am deutlichsten ausgeprägt, in

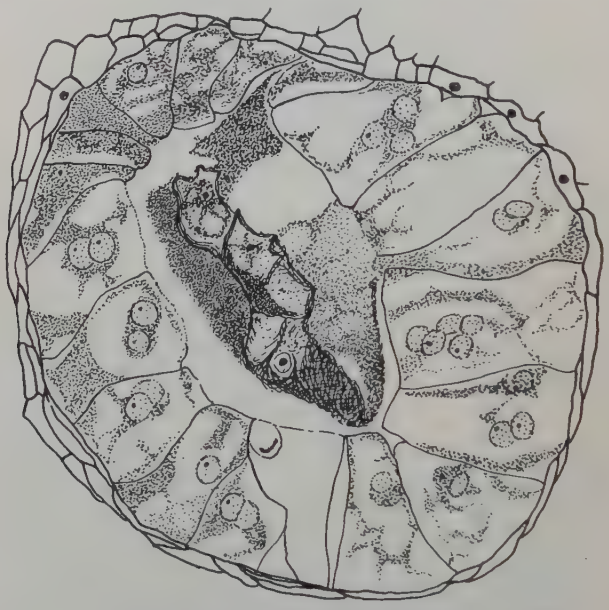


Abb. 11. *Oe.* ^{h}*Hookeri · stringens fr/fr.* Pollenfach quer, maximale Anschwellung des Tapetums, Innenwände des Tapetums lokal durchbrochen. Protoplastenaustritt. $^{2}/_{3}$.

dem die stärkste Auflösung der Pollenkörner einsetzt, was ein Hinweis darauf ist, daß diese, wie schon bei OEHLKERS 1927 erwähnt, tatsächlich durch eine Fehlsekretion des Tapetums ausgelöst wird. Zunächst werden die Exinen der Pollenkörner, sodann deren Membranen aufgelöst. Der Kern mit dem deutlich angefärbten Nukleolus bleibt selbst dann noch erkenntlich, wenn eine exakte Grenzziehung zwischen Pollen und Degenerat nicht mehr möglich ist. Nun werden die Innenwände der Tapetenzellen immer stärker gedehnt, dadurch dünner, brechen schließlich stellenweise durch und lassen so den plasmatischen Inhalt austreten (Abb. 12). Die Kerne der enorm angeschwollenen Tapetenzellen sind bis zuletzt gut erhalten. In den Zellen jedoch, aus denen der Protoplast austritt, werden sie aufgelöst. Die mit Gentianaviolett gefärbten Präparate weisen auf keinerlei Veränderung der Tapetenprotoplasten vor und während des Austrittes hin; bei Eisenhämatoxylin dagegen erscheinen diese zu groben dunkelgefärbten Schollen verklumpt, der einzige Unterschied, den die zwei verschiedenen Färbemethoden aufweisen. BEER, der seine Präparate ebenfalls mit Eisenhämatoxylin anfärbte, schildert das entsprechende Stadium der Normalentwicklung mit den gleichen Erscheinungen. Dieses ausgetretene Tapetenmaterial soll dann normalerweise,

vermutlich enzymatisch gelöst, durch die dichte Pollenmembran eindringen und der weiteren Ernährung des Pollenprotoplasten dienen, der daraufhin wieder so

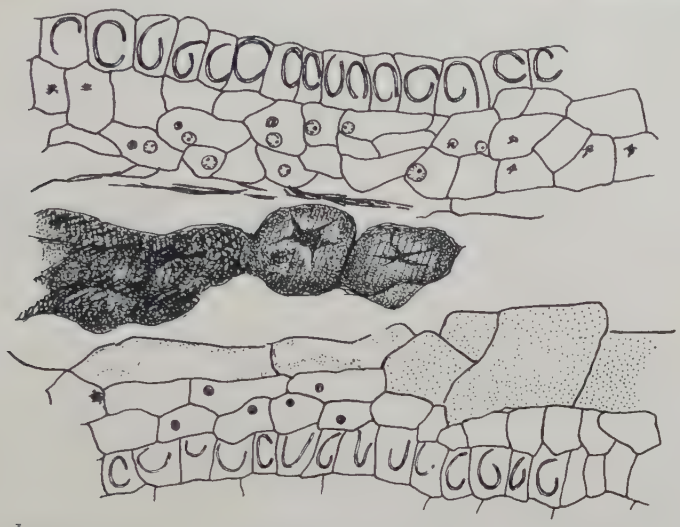


Abb. 12. *Oe.* ^{h}*Hookeri · stringens fr/fr.* Pollenkornmaterial wird in die homogene Degeneratmasse einbezogen, Tapetenzellen zerstört. $^{2}/_{3}$.

stark anschwillt, daß er erneut das ganze Lumen des Pollenkornes erfüllt. In Abweichung von der Normalentwicklung dient jedoch der Tapetenprotoplast bei Pollensterilen nicht mehr der Ernährung der schon zu stark geschädigten Pollenkörner, sondern geht ebenfalls in der Degeneratmasse auf. Diese läßt zum Teil

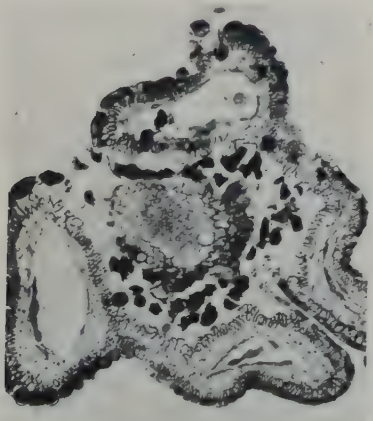


Abb. 13.

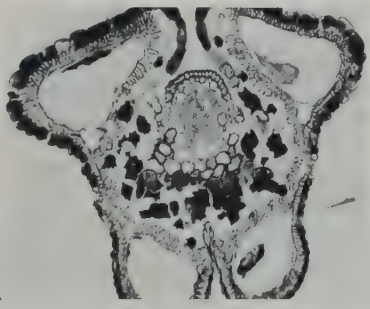


Abb. 14.

Abb. 13. *Oe.* ^{h}*Hookeri · stringens fr/fr.* Anthere quer, Degenerat verklumpt, mittlere Wandschichten angeschwollen.

Abb. 14. *Oe.* ^{h}*Hookeri · stringens fr/fr.* Anthere quer, Degeneration bis zur Faserschicht fortgeschritten.

noch die Pollenumrisse erkennen, doch nun ist deren Kernmaterial aufgelöst und nur vereinzelt sind noch Nukleoli sichtbar. Nach Austritt des Protoplasten klappen die Wände der Tapetenzellen zusammen, auch von ihren Kernen ist nichts mehr zu sehen. Die Tendenz, sich aufzublähen, greift in diesem Stadium auf die mittleren Wandschichten über. Auch diese vergrößern ihr Volumen

unter gleichzeitiger Degeneration der Kerne, verbunden mit dem Auftreten stärker färbbarer Körner (Abb. 13). Das gesamte Degenerat im Pollenfach verklumpt schließlich zu einer kompakten, homogenen Masse, die sich mit Eisenhämatoxylin und Gentianaviolett dunkel anfärbt. Die Aufblähung der mittleren Wandschichten erfolgt unter gleichzeitiger Kernvergrößerung, bis endlich, dem Tapetum vergleichbar, die Zellwände zerreißen, zusammenklappen und als lose oder verklebte Membranen der Innenseite der Faserschicht anliegen. Das Pollenfach kann schon vor diesem Stadium kollabieren (Abb. 13 rechts unten), tut dies aber nicht notwendigerweise. Ein Übergreifen der Degeneration auf die Faserschicht konnte nirgends beobachtet werden, obwohl mehrere Knospen mit vollständig degeneriertem Antherenninhalt untersucht wurden (Abb. 14).

3. Oe. (flavens · stringens) F_2, pollensteril fr/fr.

Als Vergleich zu den neu untersuchten Formen wurde die pollensterile *flava*, mit der sich die Arbeit von Oehlkers (1927) beschäftigt, nochmals herangezogen. Im allgemeinen stimmen die bei dieser vergleichenden Untersuchung gewonnenen Ergebnisse mit denen von Oehlkers überein. Es muß jedoch erwähnt werden, daß die Anfärbung mit Gentianaviolett einige Zellelemente, so besonders die Zellwände, deutlicher erkennen läßt und so eine Entscheidung erlaubt, welche der beiden neu untersuchten Formen der *Oe. flavens · stringens* hinsichtlich der Auflösung der Membran der Tapetenzellen am ähnlichsten sei. Es konnte hierbei eine auffallende Übereinstimmung mit *Oe. ^{h} Hookeri · stringens* festgestellt werden. Nach starker Zellvergrößerung, verbunden ebenfalls mit Kernvergrößerung, wird die durch das Anschwellen sehr dünn gewordene Tapetenzellwand lokal zerrissen, der plasmatische Inhalt tritt aus und vereinigt sich mit der homogenen Masse im Inneren des Pollenfaches. Sicher ist dabei, daß die Membranen bis zum letzten Augenblick zwar gedehnt werden, aber wohlerhalten bleiben, bis sie auf der Innenseite örtlich zerreißen. Sie werden nicht total aufgelöst. Die Färbung mit Eisenhämatoxylin täuscht höchstens durch die Betonung der anderen, zum Teil im Rahmen der Degeneration entstandenen Zellelemente ein Fehlen der Zellwände vor, wie dies bei Oehlkers (1927) Fig. 8 dargestellt wird.

4. Oe. (^{h}Hookeri · velans) F_2, pollenfertil.

Leider standen gerade die Stadien, die hinsichtlich der Entwicklung der Tapetenzellen eine Nachprüfung der Angaben Beers ermöglicht hätten, nicht zur Verfügung. Beer spricht in seiner Beschreibung der Normalentwicklung nie von einer Anschwellung des Tapetums; doch ein Vergleich der von ihm gezeichneten jungen und alten Zellen ergibt dasselbe Größenverhältnis, wie im hier beschriebenen Material zwischen jungen, sehr plasmareichen und alten, vakuolisierten Tapetenzellen festgestellt werden konnte. Die Aufblähung wäre dann nicht als Degenerationserscheinung anzusehen, sondern als Normalfall im Verlauf der Antherenentwicklung.

D. Diskussion.

1. Zur Entwicklung und Funktion des Tapetums.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde mehrfach von einer Fehlsekretion des Tapetums gesprochen. Es erscheint deshalb angebracht, hier kurz auf die Entwicklung und besonders die Funktion dieses Nährgewebes einzugehen. Im

allgemeinen spricht man in dieser Hinsicht von zwei Typen: dem Sekretions- und dem amöboiden Tapetum, und man zählt die Oenotheraceen zu den Pflanzen, die im Besitze des ersteren sind. Nach der Beschreibung Beers (1906) und den eigenen Beobachtungen handelt es sich jedoch nicht ausschließlich um ein solches. Die Zusammenfassung der dargestellten Untersuchungen mit den Befunden anderer Autoren (Beer, Oehlkers) ergibt für die Entwicklung des Tapetums folgendes. Das Tapetum besitzt im Vergleich mit dem übrigen Antherengewebe besonders große, eng aneinanderschließende, zunächst einkernige Zellen mit einer auffallenden Plasmadichte. Der Kern ist relativ groß, mit einem meist zunächst nur schwach färbbaren Nukleolus. Die Zellen vergrößern sich und werden zweikernig, im Verlauf der weiteren Entwicklung treten nochmals Kernteilungen ohne Zellteilungen auf, so daß schließlich 3—5 Kerne je Zelle vorhanden sind. Die Zellen lösen sich voneinander und sitzen frei der darunterliegenden Wandschicht auf. Wie an mehreren Stellen betont wurde, besitzen die Tapetenzellen in diesem Stadium von Anfang an die Kennzeichen eines Drüsengewebes: Plasmareichtum, fast keine Vakuolen, große Zellkerne mit großem Nukleolus. Die Tapetenzellen schwellen dann stark an, mit gleichzeitiger weiterer Kern- und Nukleolusvergrößerung. Eine Vakuolisierung des Plasmas tritt erst später vor der Degeneration auf. Bis zu diesem Stadium verläuft die Entwicklung in gleicher Weise bei den normalen und abweichenden Formen. Die starke Anschwellung der Zellen hängt danach mit ihrer Funktion zusammen und tritt auch in der Normalentwicklung auf, stellt also keine Besonderheit der Pollensterilen dar. Das Stadium der maximalen Anschwellung muß sehr schnell vorbeigehen. Es wird immer nur in einem Teil eines Pollenfaches gefunden und kann unter ungünstigen Umständen auch ganz übersehen werden, da es von Oehlkers bei *flavens · stringens fr/fr* nicht gefunden wurde, im jetzt untersuchten Material aber eindeutig nachweisbar war.

Erst bei der Auflösung der Tapetenzellen lassen sich deutliche histologische Unterschiede zwischen den einzelnen Formen feststellen. Die Zellwände werden einmal lokal durchbrochen, zum anderen können sie von innen her aufgelöst werden. Das Verhalten der Kerne der Tapetenzellen ist ebenfalls in Parallele damit nicht gleichartig. Bei *fr/fr*-Antheren werden sie erst bei der Zerstörung der Zellen aufgelöst, ihre Degeneration kann also als eine Folge des Absterbens des Plasmakörpers angesehen werden. Bei den *ster/ster*-Homozygoten degenerieren die Kerne dagegen in den Zellen vor deren Auflösung, so daß der Zerfall der Kerne als Beginn der Zellzerstörung angesehen werden muß und nicht als deren Folgeerscheinung. Zwischen *fr* und *ster* zeigen sich also nochmals in den Spätstadien der Tapetenentwicklung deutliche Differenzen, nachdem die Auflösung der Pollen und damit die Fehlfunktion bereits in früheren Stadien Unterschiede aufgewiesen hat.

Es sieht so aus, als ob in den jüngeren Stadien die Tapetenzellen eine Sekretionsfunktion ausübten, in älteren dagegen der Protoplast der Tapetenzellen total in die Nährmasse der Pollen eingeht, dann also eher im Sinne eines Periplasmodiums fungiert. (Man bezeichnet zwar per def. ein Tapetengewebe nur dann als Periplasmodium, wenn die vollständigen, unbehäuteten Protoplasten zwischen die Pollenkörner einwandern.) Ein Nachweis der Sekretionsfunktion in Frühstadien konnte bei den bisherigen Untersuchungen (Beer, Lehmann, Gates, Pohl,

Oehlkers und eigene) nicht direkt erbracht werden, da die vermutlich vorhandenen Sekrete sich mit den angewendeten Färbemitteln nicht anfärben. Bei der angenommenen Fehlsekretion des Tapetums in den hier untersuchten Fällen tritt jedoch in späteren Stadien eine Färbbarkeit der Masse im Innern des Pollenfaches auf. Dorseys (1914) beschreibt ähnliches bei Vitis: „In frühen Stadien ist die Färbbarkeit des Antherensaftes nur schwach. Sie nimmt nach der Auflösung der dicken Wände der PMZ zu. Diese zunehmende Färbbarkeit rührt wohl in erster Linie von den Pektinstoffen der PMZ-Wände her." So dürften auch bei *Oenothera*, wo bei der Degeneration eine Auflösung der Exine und der Pollenmembran erfolgt, diese Membranstoffe und nicht die Tapetensekrete selbst für die stärkere Färbbarkeit des Anthereninhalts verantwortlich sein. Die PMZ-Membranen haben keine derartige Wirkung. Stimmt diese Annahme, so ist es nicht verwunderlich, daß Beer bei der Normalentwicklung keinerlei gefärbten „Antherensaft" findet. In Spätstadien der Antherenentwicklung wird dann, nach Angaben Beers, die Ernährung der Pollen durch den gesamten Tapetenprotoplasten durchgeführt. Eine derartige Feststellung ist leichter zu bestätigen, da man ohne weiteres den Abbau des gefärbten Zytoplasmas verfolgen kann, dem dann das Anwachsen des Pollenprotoplasten parallelgehen soll — ein Beweis dafür, daß die enzymatisch abgebauten Bestandteile des Tapetums der Ernährung der Pollen dienen. Hierzu kommt es im Falle der Pollensterilen nicht mehr, da die Pollen schon zu sehr geschädigt sind.

Wenn auch das Fehlen der Stärke bei den *fr*/*fr*-Pflanzen auf einen Mangel an Nährstoffen hinweist, so ist doch die Fehlfunktion des Tapetums sicher nicht einfach das Fehlen einer normalen Sekretion von Stoffen, die der Ernährung des Pollens dienen. In diesem Fall müßten mangelhaft entwickelte Pollenkörner entstehen, die aus Nahrungsmangel frühzeitig zugrunde gehen könnten. Die Absterbeerscheinungen müßten dabei vom Inhalt des Pollens ausgehen, zunächst das Plasma erfassen und dann die leeren Zellwände zurücklassen. Diese könnten allenfalls durch freiwerdende Enzyme von innen her angegriffen werden. Wie aber bereits Oehlkers dargelegt hat, kann diese Möglichkeit ausgeschlossen werden. Da die Pollenkörner von außen her aufgelöst werden und das Plasma und besonders die Zellkerne noch sehr lange Zeit hindurch erkennbar bleiben und erst später von der Degeneration ergriffen werden, muß die Fehltätigkeit des Tapetums in einer Sekretion von Enzymen bestehen, die die bereits gebildete Exine, die Zellulosewand des Pollens und das Plasma aufzulösen vermögen. Daß eine Sekretion der noch lebenden und funktionierenden Tapetenzellen vorliegt und nicht eine Wirkung von Nekrohormonen, die beim Absterben dieser Zellen frei werden könnten, beweist einmal die Tatsache, daß auch normal in einem vergleichbaren Stadium die Tapetenzellen sich auflösen ohne den Pollen anzugreifen, und zum anderen, daß zuerst die Auflösung des Pollens beginnt bei äußerlich noch völlig intakten Tapetenzellen und die Degeneration dieser erst nach fast schon vollendeter Auflösung der Pollenkörner eintritt. Aus der Feststellung, daß die Funktion des Tapetums durch *fr* und *ster* an zwei verschiedenen Stellen seiner Entwicklung gestört werden kann und zu einer Fehlsekretion anscheinend von verschiedenen Enzymen führt, ergibt sich, daß seine normale Funktion sehr komplexer Natur ist.

2. Die Degeneration des Anthereninhalts.

Zwecks übersichtlicher Darstellung der Ergebnisse vorliegender Arbeit wurden diese in einer Tabelle zusammengefaßt, die einem Vergleich der drei Pollensterilen: *Oe. (hHookeri · stringens)*, *Oe. (flavens · stringens)* und *Oe. (hHookeri · velans)* dient. Aus der Zusammenstellung geht deutlich hervor, daß die Degeneration bei *Oe. (hHookeri · velans)* von der der beiden anderen Formen unterschieden werden kann. Die genetisch festgestellte Verschiedenartigkeit der beiden Sterilitätsfaktoren *fr* und *ster* der Komplexe *stringens* und *velans* manifestiert sich also auch in physiologischer Hinsicht, sowohl bezüglich der Entwicklung der Pollen, als auch des Tapetums. Die ungleichartigen Daten im Ablauf der Fehlentwicklung wurden besonders markiert (×).

Der Sterilitätsfaktor *ster* in *hHookeri · velans* scheint später in das Stoffwechselgeschehen einzugreifen als der Faktor *fr*, der schon eine Ausbildung von Reservestärke verhindert. Die Auflösung der Pollen setzt auffallenderweise bei allen drei Formen in vergleichbaren Entwicklungsstadien der Antheren, nämlich kurz vor dem Sichtbarwerden des Kohäsionsmechanismus der Faserschicht ein, wobei aber die Pollen der *ster/ster*-Antheren etwas weiter entwickelt werden. Die verschiedenartige Beschaffenheit des Degenerates, homogen oder schwammartig, kann ihre Ursache darin haben, daß unter dem Einfluß der beiden Pollensterilitätsgene verschiedenartige Zersetzungsprodukte entstehen. Dies deutet darauf hin, daß die Fehlfunktion in beiden Fällen nicht gleichartig verläuft, sondern die sekretorische Tätigkeit des Tapetums in verschiedener Weise gestört ist. Interessant ist die Feststellung, daß die Degeneration bei *hHookeri · stringens* und *flavens · stringens* in durchaus vergleichbarer Weise abläuft. Der einzige zu erwähnende Unterschied (die Bildung von etwa 10% Gonen mit zwei kleinen Kernen bei *hHookeri · stringens*) ist zytologisch bedingt. Er kann hier im Rahmen einer entwicklungsgeschichtlich-physiologischen Fragestellung außer acht gelassen werden, da in den folgenden Stadien auftretende Übereinstimmung der zwei genannten Formen eindeutig zeigt, daß das Vorhandensein zweier Kerne keineswegs die Degeneration bei *hHookeri · stringens* auslöst, sondern diese, genau wie bei *flavens · stringens* durch eine somatische Störung hervorgerufen wird. So ist also der Faktor *fr* allein für die Pollensterilität verantwortlich und wirkt sich, unbeeinflußt durch die Genome und Plasmone, mit denen er kombiniert wird, stets völlig gleichartig aus.

Gemeinsam ist den beiden Sterilitätsfaktoren *fr* und *ster*, daß sie, abgesehen von den unterschiedlichen Einzelmerkmalen der Fehlentwicklung, beide denselben physiologischen Effekt einer Auflösung des Pollenmaterials nach normaler Pollenbildung auf dem Wege einer Fehlsekretion des Tapetums bewirken. Eine derartige somatisch bedingte Stoffwechselstörung im Verlauf der Pollenentwicklung ist keineswegs nur bei *Oenothera*-Bastarden anzutreffen.

3. Die genetischen Grundlagen der Pollensterilität.

Außer bei *Oenothera* wurden auch bei einer Reihe anderer Pflanzen Pollensterile nach Bastardierungen in der F_1 oder späteren Generationen beobachtet. Die Ursache hierfür kann sehr verschiedenartig sein. Zu unterscheiden ist dabei zwischen der teilweisen Sterilität, bei der nur ein bestimmter Anteil der gebildeten

Pollenkörner funktionsfähig ist, und der vollständigen, bei der die betreffenden Formen überhaupt keine oder nur nichtfunktionierende Pollenkörner ausbilden. Eine 50%ige Pollensterilität ist bei einer Reihe von komplexheterozygotischen Arten durch Gene bedingt, die Keimunfähigkeit der Pollenkörner hervorrufen, die das entsprechende Allel enthalten und dessen Übertragung durch den Pollen somit ausgeschlossen ist. Solche gametischen Letalfaktoren sind bei *Oenothera* in vielen Komplexen nachgewiesen (Renner u. a. 1916, 1917, 1933). Eine teilweise Sterilität kann ebenfalls durch Heterozygotie der Mutterpflanze für chromosomale Mutationen (Deletionen, Inversionen, bestimmte Translokationen) hervorgerufen sein. Die Abweichung vom Normalverhalten liegt dabei in all diesen Fällen in der Fehlentwicklung des einzelnen Pollenkornes und die Ursache für den Ausfall ist immer in der genetischen Konstitution des betreffenden Kernes zu suchen.

Dieser gonischen Sterilität gegenüber stehen andere Formen, die von besonderem Interesse sind, weil bei ihnen ein vollständiger Ausfall der Antherenfunktion festzustellen ist. Die Ursachen sind hier nicht in der Konstitution des einzelnen Pollenkornes, sondern in Besonderheiten der Mutterpflanze zu suchen. Diese Sterilität kann, wenn sie in einem Bastard auftritt, die Folge einer Störung der Meiosis sein, wodurch Gonen mit nichtbalanzierten Genomen entstehen, die nicht funktionsfähig sind. Obwohl auch hier die Ursache für den Ausfall des einzelnen Pollenkornes in der chromosomalen Zusammensetzung seines Kernes zu suchen ist, liegt doch die Grundlage für diese Störungen in der Konstitution der Mutterpflanze, die sie nicht zu einer normalen Entwicklung befähigt. In den Fällen dagegen, in denen die F_1 ein normales chromosomales Verhalten zeigt, erst in der F_2 dagegen ein Teil der Individuen pollensteril ist, liegt bei diesen meist, nach normaler Meiosis, eine Schädigung der heranwachsenden Pollenkörner durch von der Mutterpflanze ausgehende Einflüsse vor. Eine Entscheidung darüber, was im Einzelfall zutrifft, kann nur an Hand einer zytologisch-entwicklungsgeschichtlichen Untersuchung getroffen werden. Nach Klärung dieser Frage ergibt sich sofort eine andere, nämlich wodurch die festgestellten Schädigungen und Störungen ihrerseits ausgelöst werden. Besonders die F_2-Sterilität ist dabei von Interesse, weil hier eine genetische Bedingtheit der Störungen zu vermuten ist und ihre Untersuchung Hinweis auf die Wirkungsweise der daran beteiligten Gene geben kann. Für die beiden pollensterilen Formen von *Oenothera* ist diese genetische Grundlage bekannt. Die betreffenden Gene sind in ihrer Vererbungsweise untersucht und konnten bestimmten Chromosomen zugewiesen werden (Harte 1948).

Die genetisch bedingte Pollensterilität in den *strigosa*-Kreuzungen tritt auf, wenn der Diplont für das Allel *fr* homozygot ist. Der Pollen der Heterozygoten $+^{fr}/fr$ weist keine Störungen auf, so daß hier *fr* sowohl durch den Pollen, wie durch die Eizellen vererbt werden kann und eine Rekombination in der Nachkommenschaft möglich ist. Sie ist also nicht bedingt durch die genetische Konstitution des absterbenden Pollens, sondern durch diejenige der Pflanze, auf der er entsteht. Die Entwicklung des Pollens, der Haplophase, vollzieht sich hier in einer Abhängigkeit von der Diplophase, die weiter geht als eine rein mechanische Hilfe durch Nährstoffzufuhr. Nach der Untersuchung von Oehlkers (1927) ist also die Pollensterilität durch *fr*/*fr* das Ergebnis einer sehr spät auftretenden somatischen Störung der Antherenentwicklung, wodurch die schon entstandenen

Haplonten vernichtet werden. Das gleiche konnte hier für *ster* bewiesen werden. Der Faktor *fr* bewirkt dies nicht nur in der Kombination *flavens · stringens*, in der er ursprünglich von Oehlkers gefunden wurde, sondern auch in anderen *stringens*-Verbindungen. Das gleiche gilt nach den vorliegenden Untersuchungen für die Wirkung des Gens *sterilis*.

Frankel (1940) weist bei der Gattung *Hebe* ähnliche Störungen nach und bezeichnet diese als „undefined male sterility". Sofort nach normal verlaufenem Pachytän oder aber erst in späteren Stadien findet er in den Pollenfächern gleichzeitige Degeneration von Pollen und Tapetum. Er beschäftigt sich jedoch nicht weiter mit der physiologischen Auslösung der Pollensterilität, sondern weist in dieser Hinsicht nur auf Beadle hin, der derartige Effekte als „degeneration ... because of some sort of nutritive disturbance" erklärt. Frankel spricht zwar von rezessiven Genen, die für die Pollensterilität verantwortlich sind, doch nirgends findet sich in der Arbeit ein Hinweis darauf, daß auch hier, wie bei *Oenothera*, die Diplophase für die Fehlentwicklung der Pollen verantwortlich, ist ebensowenig ist die Rede von einer Lokalisation der betreffenden Gene. Es ist jedoch nicht anzunehmen, daß die Degeneration auf gonische Letalfaktoren zurückzuführen ist, sondern viel eher, daß es sich wie bei *Oenothera* um eine späte somatische Störung handelt. Eine Fehlsekretion dürfte in diesem Falle wegen der Gleichzeitigkeit der beiden Degenerationsvorgänge nicht für die Auflösung der Pollen verantwortlich sein, allenfalls eine anderweitige Fehlfunktion des Tapetums. Da die Degeneration bei *Hebe* schon im Pachytän einsetzen kann, ist der Vergleich mit Mais, den Frankel anführt, nicht berechtigt. Bei letzterem (Eyster 1944) tritt infolge irregulärer Metaphase, die ihrerseits durch eine Störung oder ein Fehlen der Synapsis hervorgerufen wird (Beadle und McClintock) eine Fehlverteilung ein, bei *Hebe* dagegen verklumpen die Chromosomen so früh, daß die Meiosis überhaupt nicht mehr vollständig abläuft.

Als weiteres Beispiel einer durch die Diplophase hervorgerufenen Pollensterilität ließen sich noch die *Ribes*-Hybriden Tischlers (1906) anführen. Während bei *Hebe* und *Oenothera* die durch Sterilitätsfaktoren hervorgerufenen Stoffwechselstörungen ein beträchtliches Ausmaß annehmen, treten sie bei *Ribes*-Hybriden nur als Mangelernährung auf. Diese verursacht bei den Pollen eine Plasmaarmut, derzufolge kein Pollenschlauchwachstum eintritt.

Nicht so eindeutig sind die Ergebnisse von Tischler 1908 hinsichtlich der Pollensterilität von *Mirabilis Jalapa* × *tubiflora*, *Potentilla Tabernaemontani* × *rubens* und *Syringa vulgaris* × *persica*. Im Gegensatz zu *Oenothera*, *Hebe* und *Ribes* waren hier die Eltern schon teilweise steril (Pollen eines Faches teils fertil, teils steril), durch Selbstung spalteten total sterile Formen heraus. Tischler reihte diese Befunde auch unter die Rubrik: „ausgelöst durch Mangelernährung" ein und begründete dies damit, daß die Reduktionsteilung noch vollständig normal ablief und erst die späteren Stadien unter Schwund des Pollenprotoplasten, verbunden mit starkem Wachstum der Exine, degenerierten. Auf eine Stoffwechselstörung weist ebenfalls das anomale Tapetenverhalten bei *Mirabilis Jalapa* × *tubiflora* hin, das sich nach Tischler 1908, wie bei *Oenothera*, in einer Einwanderung des körnig zerfallenden Tapetenprotoplasten zwischen die degenerierenden Pollen äußert. Es könnte jedoch sein, daß es sich auch hier, wie durch Beer für *Oenothera* gezeigt wurde, durchaus um ein Normalverhalten handelt. Eine bessere

Tabelle 1. *Entwicklung von Pollen und Tapetum bei pollensterilen Oenotheren.*

	fr / fr		*ster / ster*
	^{h}*Hookeri · stringens*	*flavens · string.*	^{h}*Hookeri · velans*
Entwicklung des Pollens.			
Konfiguration der Meiosis	2 Viererringe und 3 Bivalente	1 4-Ring und 5 Bivalente	1 Viererring und 5 Bivalente
Tetradenbildung	normal	normal	normal
Junge Pollen	normal	normal	normal
Kernverhältnisse der Pollen	etwa 10% Gonen mit 2 kleinen Kernen (Fehlverteilung in der Meiosis?)	normal	normal
× Reservestoffe im Pollen	keine	keine	Stärke schon in den Tetraden
Einsetzen der Degeneration	kurz vor Auftreten des Kohäsionsmechanismus	ebenso	ebenso
Degeneration der Pollen	Auflösung von außen nach innen (s. Text)	ebenso	ebenso
Ursache der Degeneration	vermutliche Fehlsekretion des Tapetums	ebenso	ebenso
× Degenerat während noch Pollen oder Pollenreste vorhanden	homogen	homogen	schwammartig
× Degenerationsstrang im Pollenfach der vollentwickelten Anthere	aus Pollen- und Tapetenmaterial	ebenso	hauptsächlich Tapeten- und wenig Pollenmaterial. Pollenmasse wird großenteils resorbiert.
Entwicklung des Tapetums.			
Bis zum Austritt des Protoplasten	normal	normal	normal
× Austritt des Protoplasten	durch lokale Wandzerreißung	ebenso	nach Auflösung der Zellmembran vom Ansatzpunkt an den mittleren Wandschichten her
× Degeneration der Zellkerne	nach Austritt der Protoplasten durch Wandriß	ebenso	in der Zelle vor Auflösung der Wand
Entwicklung und Auflösung der mittleren Wandschichten.			
	normal	normal	normal

Begründung der Annahme einer physiologischen Störung folgt aus der Tatsache, daß durch Kulturänderung schon bei den teilweise Sterilen totale Sterilität hervorgerufen werden kann. Befremdend ist jedoch das Herausspalten solcher total Sterilen nach einer Kreuzung. Eine Klärung der genetisch-zytologischen Voraussetzungen wurde bei den drei zuletzt genannten Bastarden wegen der bei diesen weit zurückliegenden Untersuchungen andersartigen Fragestellung nicht versucht.

Eine stoffwechselphysiologische Beeinflussung der unselbständigen Haplophase durch die diploide Mutterpflanze läßt sich somit bei verschiedenen Pflanzen nachweisen. In einigen Fällen gelang es, das Vorhandensein rezessiver Gene dafür verantwortlich zu machen und deren spezifisches Eingreifen in den Entwicklungsablauf der Antheren und Pollen nachzuweisen. Die Gattung *Oenothera* dürfte diesbezüglich zwar am genauesten untersucht sein, aber nicht isoliert stehen.

Zusammenfassung.

Im Hinblick auf die eingangs angeführte Aufgabe vorliegender Arbeit läßt sich zusammenfassend sagen:

1. Die Auswirkung der beiden Sterilitätsfaktoren *fr* und *ster* läßt sich durchgehend in allen Stadien der Antherenentwicklung verfolgen.

2. Die beiden Faktoren greifen zu verschiedenen Zeitpunkten in das Stoffwechselgeschehen ein. *fr* macht bereits eine Ablagerung von Reservestärke unmöglich. Im Sinne einer Auslösung der Pollendegeneration werden sie jedoch in vergleichbaren Stadien, kurz vor dem Sichtbarwerden des Kohäsionsmechanismus der Faserschicht, manifest.

3. Die Wirkungsweise von *fr* und *ster* ist im Speziellen verschieden. Beide bewirken jedoch vermutlich eine Fehlsekretion des Tapetums.

4. Der Faktor *fr* des Komplexes *stringens* wirkt sich in Verbindung mit ^{h}*Hookeri* gleichartig aus wie in Verbindung mit *flavens*. Verschiedene genische und plasmatische Umwelt ist auf die Wirkung des Allels *fr* ohne Einfluß.

Literatur.

Beer, R.: On the development of the pollen grain and anther of some *Onagraceae*. Beih. bot. Zbl. **19**, 286 (1905). — Dorsey: Pollendevelopment in the grape, with special reference to sterility. Univ. Minnesota Stat. Bull. **144** (1914). — Eyster: Genetics of *Zea Mays*. Bibliogr. genetica **11** (1934). — Frankel, O. H.: Studies in *Hebe*. II. J. Genet. **40**, 171 (1940). — Harte, C.: Zytologisch-genetische Untersuchungen an spaltenden *Oenothera*-Bastarden. Z. Vererbungslehre **82**, 495 (1948). — Lehmann, E.: Theorien der *Oenothera*-Forschung. Jena 1922. — Oehlkers, F.: Vererbungsversuche an *Oenothera*. III. *Oe. strigosa* und *suaveolens*. Z. Vererbungslehre **31**, 201 (1923). — Über Oenotherenkreuzungen. Z. Vererbungslehre **33**, (1924). — Erblichkeit und Zytologie einiger Kreuzungen mit *Oe. strigosa*. Jb. Bot. **65**, 411 (1926). — Entwicklungsgeschichte der Pollensterilität einiger Oenotheren. Z. Vererbungslehre **43**, 265 (1927). — Entwicklung und Erblichkeit der Sterilität bei den Pflanzen. Z. Vererbungslehre **54**, 51 (1930). — Oehlkers, F., u. C. Harte: Über die Aufhebung des Gonen- und Zygotenausfalls bei *Oenothera*. Flora (Jena) **37**, 106 (1943). — Pohl, J.: Über die Variationsweite von *Oenothera Lamarckiana*. Österr. bot. Z. **45**, 166, 205 (1895). — Renner, O.: Die tauben Samen der Oenotheren. Ber. dtsch. bot. Ges. **34**, 10 (1916). — Versuche über die gametische Konstitution der Oenotheren. Z. Vererbungslehre **18**, 121 (1917). — Zur Kenntnis der Letalfaktoren und des Koppelungswechsels der Oenotheren. Flora (Jena) **27**, 215 (1933). — Schnarf, K.: Kleine Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Angiospermen; über das Verhalten des Antherentapetums einiger Pflanzen. Österr. bot. Z. **1923**. — Vergleichende Embryologie der Angiospermen. In Handbuch der Pflanzenanatomie. Berlin 1931. — Tischler, G.: Über die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei *Ribes*-Hybriden. Jb. Bot. **42**, 545 (1906). — Weitere Untersuchungen über Sterilitätsursachen bei Bastardpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **25** (1907). — Zellstudien an sterilen Bastardpflanzen. Arch. Zellforschg **1** (1908). — Ubisch, G.: Zur Entwicklungsgeschichte der Antheren. Planta (Berl.) **3**, 490 (1927).

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 84, S. 270—305 (1952).

American University of Beirut, Lebanon.

SEASONAL FLUCTUATIONS IN *DROSOPHILA* POPULATIONS AT DIFFERENT ALTITUDES IN THE LEBANON MOUNTAINS[1].

By

Sarah Bedichek Pipkin[2].

With 6 Figures.

(Eingegangen am 28. August 1951.)

I. Introduction.

The general occurrence of periodic number changes in populations of wild animals and the significance of these changes in relation to evolutionary processes have been emphasized by Elton (1927, 1946) and Spencer (1941). Fluctuating populations in various animals likewise have been considered by Mayr (1942), Huxley (1942) and Dobzhansky (1941).

Patterson's (1943) extensive work on the fluctuations of nine common species of *Drosophila* near Austin, Texas reveals that different species show marked seasonal changes in population size. He found one or more periods of expansion per year; characteristic absences of several months during summer and/or autumn and winter, and also periods of pessimum or low population frequency.

Dobzhansky and Epling (1944) observed the seasonal distribution of *D. pseudoobscura* at four localities near or on Mount San Jacinto in California. The period of maximum numbers of this species was shown to occur during March and April for the lowest elevation; April and May, for the next highest; and in June and July, for the two highest altitude stations.

Dobzhansky and Pavan (1950) found month to month fluctuations of *Drosophila* populations occurring in tropical Brazil, both in areas where a wet and dry season alternated and also in regions of relatively warm humid climates. These authors state, "It is an open question to what extent these changes are cyclic and how regularly they are repeated in different years". Fruiting seasons, which occur even in areas of rather uniform climate, are apparently responsible for changes in the available food supply, hence in the numbers of flies supported by a given region.

The purpose of the present study was to gain information on the seasonal fluctuations in *Drosophila* populations at six different altitude levels in and near the Lebanon Mountains. The influence of temperature, rainfall, and humidity on population size was also studied. Collections were begun on December 21, 1946, at Beirut; April 6, 1947, at Ain Anub; and some time in May, 1948, at four other stations, all work being terminated on May 31, 1949.

[1] This study was made possible by a grant of the Rockefeller Foundation, Division of Natural Sciences, during the years 1947—1950.

[2] Formerly, Lecturer in Medical Genetics, School of Medicine, American University of Beirut.

II. Location of collecting stations.

The city of Beirut, Lebanon, is situated on a coastal plain extending about three and three quarters miles to the Lebanon Mountains which rise generally to a height of over 4500 ft., reaching 8623 ft. in Sunin peak. On the eastern side of the Lebanon Mountains, a rapid descent leads to the fertile Bekaa valley, bounded on its eastern side by the Antilebanon Mountains. The six *Drosophila* collecting stations with their respective altitudes in feet, as shown on the map in Fig. 1, were as follows: Beirut, 67; Asfouriye, 400; Ain Anub, 1289; Sofar, 4524; Ksara, 3018; and Chtaura, 2867.

Fig. 1. Collection area for study of seasonal fluctuations in *Drosophila* populations at different altitudes in the Lebanon Mountains.

The area under collection possesses in general a mediterranean climate; i.e. one characterized by strong rains in the winter, none in the summer, and a short transitional spring and summer, respectively (Combier, 1945). Three kinds of mediterranean climate exist in the region from Beirut to Ksara, distinguished as follows, according to Combier, 1945[1]: (1) "A maritime climate with abundant rains for four or five months of winter and warm summers, where in spite of the absence of rain, the atmosphere remains humid." Beirut, Asfouriye, and Ain Anub possess a maritime climate. (2) "A temperate altitude climate above 1000 metres. (3281 ft.) just to the limit of permanent dwellings, with abundant rains in winter, more than one month of rain and snow, and a cold season of two to four months." Sofar is located in this area. (3) "A continental climate on the east of the coastal mountain chain with rains falling during almost all of the four winter months, and summer very warm with a great dryness of the atmosphere and large diurnal variations of temperature." Chtaura and Ksara, located in the Bekaa valley, possess a continental climate.

[1] Translated from the French.

The type of vegetation and special structures surrounding each collecting station were as follows: (1) Beirut. The collecting station was established near a tall eucalyptus tree on the slopes of a wooded ravine on the campus of the American University of Beirut. The ravine, bordered with umbrella pines, contained water during the rainy season but became almost dry during the summer. Long grasses and wild flowers covered the hillside. Orange trees grew in a nearby garden. (2) Asfouriye. The collecting station was located near an olive tree in the flower garden of a private residence on the grounds of the Lebanon Hospital for Mental Diseases. Just outside the garden walls was a pine tree which sheltered a chicken pen about 15 yards from the fly traps. Olive groves extended below the garden. (3) Ain Anub. The collecting station was in the flower garden of a small private home located on the property of the Anglican Bishop's School, about 75 yards from the schoolhouse. Olive trees were near the traps. Introduced juniper trees, eucalyptus trees, and olive trees were on the school grounds. Water was not immediately adjacent to the traps except from a native type outhouse, but a ravine on the opposite side of the schoolyard, some 150 yards distant possessed some water even during the summer. The school is located within the village of Ain Anub where small truck gardens, apricot, pear, fig trees as well as cactus hedges are cultivated on the terraced rocky mountainside. (4) Sofar. The collecting station was established in a small apple orchard with a vegetable garden nearby. There was no grass in the orchard. Water was present in tanks to serve the apple trees. (5) Chtaura. The collecting station was first located on the grounds of the Near East Foundation Experimental Farm from April to September, 1948. Cherry, plum, mulberry trees, and large vineyards were nearby. Owing to frequent loss of trap cans, a move was made in September, 1948, to a private vegetable garden in the Armenian quarter of the village. Native type outhouses were present. Water flowed in an open irrigation channel alongside the poplar-lined village streets all year. Great vineyards extended beyond the village not 50 yards from the traps. (6) Ksara. Two collecting stations in somewhat different habitats were established on the grounds of the Observatory of Ksara, belonging to the French Jesuit Fathers. Ksara box station was adjacent to the Observatory's outdoor instrument box which contained humidigraphs and thermographs. The fly traps were situated on the edge of a thirty-foot embankment at the end of a long row of fig trees, being exposed to the constant winds of the Bekaa valley. Vineyards stretched both below and above the embankment. A variety of fruit trees grew on the grounds at Ksara, and there were numerous open water-filled irrigation channels. The Ksara garden collecting station was located 150 ft. distant from the first station in a small formal flower garden sheltered from the wind by a thick hedge and trees. Traps were placed beside a pond. Ksara garden was a little cooler and more humid than the Ksara box station.

III. Materials and methods.

Four one-gallon trap cans measuring seven inches in height und six inches in diameter, placed close together, constituted a collecting station. Beginning in September, 1948, trap cans were placed together with a thermograph and a humidigraph (when available), and a rain gauge within a collection box, the

design of which is shown in Fig. 2. The upper closed compartment held the rain gauge, the collection funnel of which projected from the top of the box. The lower compartment contained an upper shelf for a thermograph and humidigraph and a lower shelf for four one-gallon trap cans resting on coarse wire netting. The collection box was raised six inches off the ground and imbedded by iron legs in cement. Small collection boxes, consisting of the lower half of the box shown in Fig. 2 and containing trap cans only, were placed at the two locations described at Ksara. Traps were baited with orange rinds, banana peelings, tomatoes, watermelon, and other fruits and vegetables. Cardboard squares rested lightly on top of the trap cans leaving cracks through which the flies could enter. Fresh bait was added twice a week except during the winter months of January, February, and March, 1949, when stations above Beirut were visited and fresh bait added only once a week. All of the used contents of trap cans were removed once a week and taken to Beirut for garbage disposal in order to avoid increasing the local fly populations from the traps themselves.

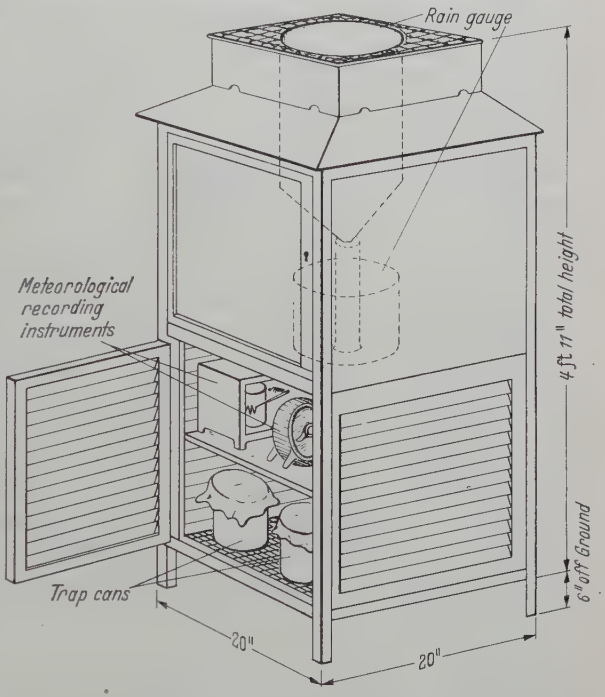


Fig. 2. Design of the collection box.

Flies were collected with a special net and transferred to food vials or bottles by means of a funnel according to the method of PATTERSON (1943). In warm weather the trapped flies were stored in a refrigerator basket for the remainder of the trip. At temperatures below 60° F., a very low flame of a Swedish kerosene "Primus" stove was used to warm a trap can while netting the flies. This method was useful in the autumn after the first cold spell when many flies were in the trap cans. If only a few flies were present, at temperatures below 50° F., it was more profitable to invert a food vial over individual flies.

The approximate times of day at which each collecting station was visited are as follows: Asfouriye, 8–9:30 a.m.; Sofar, in summer, 4 p.m. and in winter 12–1 p.m.; Chtaura, 2–2:30 p.m.; Ksara, 3–3:30 p.m.; Ain Anub, in summer, 5–6 p.m. and in winter, 4–5 p.m.; Beirut, in summer, 4:30–5 p.m. and in winter, 11 a.m.–12 n. The time schedule worked to the disadvantage of the Bekaa valley stations since a maximum population was not visiting the traps at these hours (DOBZHANSKY and EPLING, 1944). Even so, large populations were trapped at Chtaura and Ksara in the fall of 1948. Two collecting trips were made each week

to the mountain stations except during January, February, and March, 1949, when one trip a week was made. The Beirut station was visited usually three or more times a week on different days from the mountain stations. Beginning May, 1948, a pupil of the Anglican Bishop's School for Girls, Miss HOSANNA KALOSSIAN, collected four times a week for a year at Ain Anub on days when the traps were not visited by the author. The mountain pass into the Bekaa valley was closed by snow storms on several occasions during the winter of 1949, preventing visits to Chtaura and Ksara.

Taylor Instrument Company weekly-recording Fahrenheit thermographs were placed at Ain Anub and Sofar, respectively. Jules Richard weekly-recording Centigrade thermographs were used at Asfouriye and Chtaura. Bristol company daily-recording humidigraphs were put at Ain Anub and Sofar, the instrument at Sofar being two months later replaced by a Jules Richard weekly-recording humidigraph. Similar Jules Richard humidigraphs were placed at Asfouriye and Chtaura. All instruments were checked and calibrated by the R. P. C. COMBIER, S. J., late Director of the Observatory of Ksara.

No instruments were available for the Beirut collecting station, meteorological data taken at the Observatory of the American University of Beirut being used. The Observatory was located on the same hillside as the collecting station but some 400 yards distant. To check the temperature differences between the collection box and the Observatory, a Centigrade thermometer was placed in the collection box on March 21, 1949, and continued through May 31. Three readings a day were made: at 8:30 a.m., 2:30 p.m., and 8:30 p.m., the same hours at which temperature readings were made at the Observatory. A comparison of mean temperatures for the March period and the months of April and May at the collection box and the Observatory showed daytime means differing by from 0·3° C. to 1·2° C. The night means differed by from 0·1° C. to 2·1° C. (month of May).

The meteorological data for Ksara box were obtained from the Observatory of Ksara.

Rain was caught by the funnel projecting from the top of the collection box. The funnel drained into a 500 cc. cylinder which was placed in a bucket to catch the overflow. Loss of water by evaporation was not great owing to the high atmospheric humidity during the rainy season. The volume of water collected was measured on each visit to the collecting stations.

IV. Experimental results.

A. Species found.

Nine fairly common species of *Drosophila* were found, as follows: *D. immigrans*, *D. funebris*, *D. subobscura*, *D. hydei*, *D. buzzatii*, *D. busckii*, *D. lebanonensis* (WHEELER, 1949), *D. melanogaster*, and *D. simulans*. Four additional species of *Drosophila* and one of *Scaptomyza* occurred but rarely: *D. phalerata*, *D. repleta*, *Scaptomyza graminum*, n. sp. "black *victoria*," n. sp. "gray *victoria*." The latter two species and *D. lebanonensis* belong to the same group as the North American *D. victoria*.

B. Seasonal fluctuations.

Table 1 includes collection data for seven common species (excluding *D. melanogaster* and *D. simulans*) for the period from May, 1948, through May, 1949. Figures for October, 1948, were not obtained. The number of collections per month is listed with data for the first species given in Table 1, *D. immigrans*. For each species, the total number of flies collected per month heads its respective monthly column. Beneath these figures appear the average number of flies per collection for each month, following the method of PATTERSON (1943), by dividing the total number of flies of each kind obtained in a month by the number of

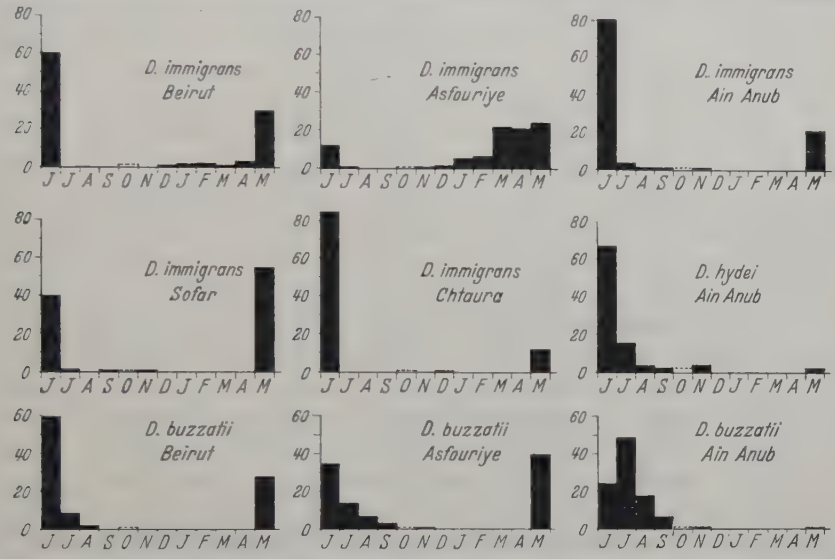

D. immigrans Beirut
D. immigrans Asfouriye
D. immigrans Ain Anub
D. immigrans Sofar
D. immigrans Chtaura
D. hydei Ain Anub
D. buzzatii Beirut
D. buzzatii Asfouriye
D. buzzatii Ain Anub
J J A S O N D J F M A M

Fig. 3. Seasonal fluctuations in populations of *D. immigrans*, *D. buzzatii*, and *D. hydei* from June, 1948 through May, 1949.

collections in that month. Population size at various stations thus may be compared even though the number of collections per month at certain stations was not the same. Under the average number of flies per collection, monthly percentages of the total average number of flies per collection for the period from June, 1948, through May, 1949, are listed in the case of all species when the numbers are high enough to justify such calculations.

Table 2, constructed in a similar way to Table 1, contains the seasonal distribution figures for seven common species (excluding *D. melanogaster* and *D. simulans*) for certain periods indicated in the Table prior to May, 1948, at Beirut, Ain Anub, and Chtaura. In Tables 3 and 4 appear the seasonal fluctuation data for *D. melanogaster* and *D. simulans*, which will be discussed after those of the other seven common species.

Histograms showing the monthly percentages taken from Table 1, covering the period from June, 1948, through May, 1949, are presented in Fig. 3 for the following species and stations: *D. immigrans* at Beirut, Asfouriye, Ain Anub, Sofar, and Chtaura; *D. hydei* at Ain Anub; and *D. buzzatii* at Beirut, Asfouriye, and Ain Anub. In all the cases illustrated here, only one period of expansion

occurred for a natural year of four seasons. *D. hydei* exhibits a typical picture with a single period of expansion occurring in June, 1948. In the case of *D. immigrans* at all the stations shown in Fig. 3 and of *D. buzzatii* at Beirut and Asfouriye, a part of the period of population expansion of the spring of 1948 is shown at the beginning and a part of the expansion of the spring of 1949 is shown at the end of the respective graphs. According to Fig. 3, the periods of population expansion occurred in the spring or early summer of all species considered except *D. buzzatii* at Ain Anub, which reached its peak of population in July, 1948.

D. immigrans showed a rather similar seasonal fluctuation picture at the two lowest altitude stations, Beirut and Asfouriye. According to Fig. 3, the species was absent in the warmest part of the summer and autumn at both stations. It reappeared in the cooler months, being found in minimal numbers throughout the winter. If a species was found in numbers of 1, 2, 3, and sometimes 0 per collection, it is said to be present in "minimal numbers;" that is, in a state of pessimum. Five individuals may be taken as an upper limit of "minimal numbers." At the higher stations of Ain Anub and Sofar, *D. immigrans* was present in minimal numbers throughout the summer, but it underwent a winter absence at these stations and also at Chtaura. Although Fig. 3 shows a summer absence for *D. immigrans* at Chtaura, Table 1 lists a midsummer record for this species at Ksara, the neighboring Bekaa valley station. The terms "winter absence" and "summer absence" at a particular station are used only to describe a species which shows a population of at least minimal numbers at some time during the year. In the event that a species is so rare at a particular station that only a few scattered records exist, its seasonal fluctuation can not be described.

D. buzzatii displays a somewhat different seasonal fluctuation picture in Fig. 3 from *D. immigrans* at Beirut, Asfouriye and Ain Anub. *D. buzzatii* disappeared for the winter even at the two lowest stations and it appeared later in the spring following a winter absence at Ain Anub than did *D. immigrans*.

The seasonal population changes in the species at stations not illustrated by histograms may be derived from Table 1 for the period from May, 1948, through May, 1949. *D. subobscura* was found in minimal numbers throughout the winter at Beirut and Asfouriye without expanding in the spring of 1949. Table 2 shows that the Beirut population of this species likewise did not increase above minimal numbers in the springs of 1947 and 1948, before undergoing a late spring-summer absence. At Ain Anub, Chtaura, and Ksara during the period from May, 1948, through May, 1949, *D. subobscura* increased somewhat in April, 1949, following a winter absence. Later this species disappeared for several warm months at these stations. Only at the highest station, Sofar, did *D. subobscura* develop a definite peak of population which occurred in May, 1949, after a winter absence at this station. *D. subobscura* was found at Sofar during each summer month.

According to Table 1, *D. funebris* never reached an average number of 1 per collection at Beirut and Asfouriye. Table 2 shows a similar extremely low frequency of this species at Beirut for the period studied prior to May, 1948. In June, 1948, *D. funebris* increased to an average number per collection of 3·67, 5·33, and 7·67 individuals at Sofar, Ain Anub, and Chtaura, respectively, as Table 1 shows. This species was unusual because it appeared in minimal numbers during one of more of the coldest winter months at the Bekaa valley stations,

Table 1.—*Collection records for nine common species for the period from May, 1948 through May, 1949.*

	May	June	July	August	Sept.	Nov.	Dec.	Jan.	Febr.	March	April	May	Totals
Species: *D. immigrans*													
Beirut													
No. flies	1465	128	0	0	0	0	3	9	6	10	14	146	1781
No. collections (all species)	12	4	6	8	11	8	7	12	7	16	7	9	107
Av. no. per collection	122·08	32·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·43	0·75	0·86	0·63	2·00	16·22	174·97
% year June 1948–May 1949	—	60·50	0·00	0·00	0·00	0·00	0·81	1·42	1·63	1·19	3·78	30·67	—
Asfouriye													
No. flies	420	60	2	0	0	4	9	19	17	73	47	119	770
No. collections (all species)	5	9	10	8	8	8	8	6	5	6	4	9	86
Av. no. per collection	84·00	6.67	0·20	0·00	0·00	0·50	1·13	3·17	3·40	12·17	11·75	13·22	136·21
% year June 1948–May 1949	—	12·78	0·38	0·00	0·00	0·96	2·16	6·07	6·51	23·31	22·51	25·32	—
Ain Anub													
No. flies	3179	3354	158	29	19	12	4	1	1	0	4	259	7020
No. collections (all species)	21	24	27	25	13	18	13	12	12	12	16	13	206
Av. no. per collection	151·38	139·75	5·85	1·16	1·46	0·67	0·31	0·08	0·08	0·00	0·25	19·92	320·91
% year June 1948–May 1949	—	82·43	3·45	0·68	0·86	0·40	0·18	0·05	0·05	0·00	0·15	11·75	—
Sofar													
No. flies	68	148	6	0	4	4	0	0	0	0	0	183	413
No. collections (all species)	6	9	9	7	8	8	7	3	2	4	4	8	75
Av. no. per collection	11·33	16·44	0·67	0·00	0·50	0·50	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	22·88	52·32
% year June 1948–May 1949	—	40·11	1·63	0·00	1·22	1·22	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	55·82	—
Chtaura													
No. flies	57	266	0	0	0	0	1	0	0	0	0	35	359
No. collections (all species)	8	9	9	7	9	7	8	4	2	2	3	8	76
Av. no. per collection	7·13	29·56	0·00	0·00	0·00	0·00	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	4·38	41·20
% year June 1949–May 1949	—	86·76	0·00	0·00	0·00	0·00	0·38	0·00	0·00	0·00	0·00	12·86	—
Ksara box													
No. flies	—	—	0	0	0	1	1	0	0	0	0	68	70
No. collections (all species)	—	—	5	8	7	7	8	4	2	3	4	8	56
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·00	0·00	0·14	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	8·50	8·77
Ksara garden													
No. flies	—	—	0	1	0	0	0	0	0	0	0	201	202
No. collections (all species)	—	—	3	8	7	7	8	4	2	3	4	8	54
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	25·13	26·26

Table 1.—(Continued.)

	May	June	July	August	Sept.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb	March	April	May	Totals
Chtaura *(D. funebris)*													
No. flies	10	69	11	2	0·	8	3	2	0	7	10	33	155
Av. no. per collection	1·25	7·67	1·22	0·33	0·00	1·14	0·38	1·50	0·00	2·33	3·33	4·13	23·28
Ksara box													
No. flies	—	—	1	0	1	9	0	0	1	3	1	33	49
Av. no. per collection	—	—	0·20	0·00	0·14	1·29	0·00	0·00	0·50	1·00	0·25	4·13	7·51
Ksara garden													
No. flies	—	—	0	1	0	0	0	0	0	0	1	15	17
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·25	1·88	2·26
Species: *D. hydei*													
Beirut													
No. flies	0	1	0	0	0	0	0	0	0·00	0·	0	3	4
Av. no. per collection	0·00	0·25	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·33	0·58
Asfouriye													
No. flies	45	25	1	0	0	1	1	0	0	9	1	136	219
Av. no. per collection	9·00	2·78	0·10	0·00	0·00	0·13	0·13	0·00	0·00	1·50	0·25	15·11	29·00
Ain Anub													
No. flies	841	706	195	43	18	40	0	0	0	0	0	17	1860
Av. no. per collection	40·05	29·42	7·22	1·72	1·38	2·22	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·31	83·32
% year June 1948–July 1949	—	67·99	16·69	3·98	3·19	5·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	3·03	—
Sofar													
No. flies	14	66	20	6	22	4	0	0	0	0	0	13	145
Av. no. per collection	2·33	7·33	2·22	0·86	2·75	0·50	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·63	17·62
Chtaura													
No. flies	10	35	2	3	15	3	0	0	0	0	0	32	100
Av. no. per collection	1·25	3·89	0·22	0·50	1·67	0·43	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	4·00	11·96
Ksara box													
No. flies	—	—	0	0	1	0	1	0	0	0	0	36	38
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·00	0·14	0·00	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	4·50	4·77
Ksara garden													
No. flies	—	—	0	9	0	0	0	0	0	0	0	24	33
Av. no. per collection	—	—	0·00	1·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	3·00	4·13

Species: *D. subobscura*													
Beirut													
No. flies	0	0	0	0	0	0	0	3	1	2	1	0	7
Av. no. per collection	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·25	0·14	0·13	0·14	0·00	0·66
Asfouriye													
No. flies	0	0	2	0	0	0	0	5	1	4	0	1	13
Av. no. per collection	0·00	0·00	0·20	0·00	0·00	0·00	0·00	0·83	0·25	0·67	0·00	0·11	2·06
Ain Anub													
No. flies	24	4	0	0	1	0	1	0	0	21	95	9	155
Av. no. per collection	1·14	0·17	0·00	0·00	0·08	0·00	0·08	0·00	0·00	1·75	5·94	0·69	9·85
Sofar													
No. flies	30	11	8	6	6	0	0	0	0	0	27	485	573
Av. no. per collection	5·00	1·22	0·89	0·86	0·75	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	6·75	58·13	73·60
Chtaura													
No. flies	12	0	0	0	0	0	4	7	3	2	12	0	40
Av. no. per collection	1·50	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·50	1·75	1·33	0·67	4·00	0·00	9·75
Ksara box													
No. flies	—	—	0	0	0	0	5	5	1	10	31	14	66
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·00	0·00	0·00	0·63	1·25	0·50	3·33	7·75	1·75	15·21
Ksara garden													
No. flies	—	—	0	0	1	1	0	0	0	8	20	28	58
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·00	0·14	0·14	0·00	0·00	0·00	2·67	5·00	3·50	11·45
Species: *D. funebris*													
Beirut													
No. flies	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	5
Av. no. per collection	0·08	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·14	0·33	0·55
Asfouriye													
No. flies	0	2	1	0	0	1	0	1	0	4	2	13	24
Av. no. per collection	0·00	0·22	0·10	0·00	0·00	0·13	0·00	0·17	0·00	0·67	0·50	1·44	3·23
Ain Anub													
No. flies	63	128	148	25	3	4	1	0	0	0	8	51	431
Av. no. per collection	3·00	5·33	5·48	1·00	0·23	0·22	0·08	0·00	0·00	0·00	0·50	3·92	19·76
Sofar													
No. flies	6	33	20	10	9	3	0	0	0	0	1	5	87
Av. no. per collection	1·00	3·67	2·22	1·43	1·13	0·38	0·00	0·00	0·00	0·00	0·25	0·63	10·71

Table 1.—(Continued.)

	May	June	July	August	Sept.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	March	April	May	Totals
Sofar *(D. bu ckii)*													
No. flies	29	163	9	5	4	2	0	0	0	0	0	231	443
Av. no. per collection	4·83	18·11	1·00	0·71	0·50	0·25	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	28·88	54·28
Chtaura													
No. flies	25	150	4	1	1	3	1	0	0	0	0	156	341
Av. no. per collection	3·13	16·67	0·44	0·17	0·11	0·43	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	19·50	40·58
Ksara box													
No. flies	—	—	1	0	0	1	0	0	0	0	0	77	79
Av. no. per collection	—	—	0·20	0·00	0·00	0·14	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	9·63	9·97
Ksara garden													
No. flies	—	—	1	2	0	1	0	0	0	0	0	138	142
Av. no. per collection	—	—	0·33	0·25	0·00	0·14	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	17·25	17·91
Species: *D. lebanonensis*													
Beirut													
No. flies	8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	10
Av. no. per collection	0·67	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·06	0·14	0·00	0·87
Asfouriye													
No. flies	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
Av. no. per collection	0·00	0·00	0·20	0·00	0·00	0·00	0 00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·11	0·31
Ain Anub													
No. flies	37	95	37	19	1	4	0	0	0	0	0	13	206
Av. no. per collection	1·76	3·96	1·37	0·76	0·08	0·22	0·0	0·0	0·0	0·0	0·0	1·00	9·15
Sofar													
No. flies	3	6	19	12	8	2	0	0	0	0	0	0	50
Av. no. per collection	0·50	0·67	2·11	1·71	1·00	0·25	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	6·24
Chtaura													
No. flies	1	4	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0	13
Av. no. per collection	0·13	0·44	0·00	0·33	0·67	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·57
Ksara box													
No. flies	—	—	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Av. no. per collection	—	—	0·00	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·13
Ksara garden													
No. flies	—	—	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0	5
Av. no. per collection	—	—	0·67	0·00	0·14	0·29	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·10

Species: *D. buzzatii*													
Beirut													
No. flies	130	115	25	7	1	0	0	0	0	0	0	127	405
Av. no. per collection	10·83	28·75	4·17	0·88	0·09	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	14·11	58·83
% year June 1948–May 1949	—	59·90	8·69	1·83	0·19	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	29·40	—
Asfouriye													
No. flies	55	314	140	56	27	2	0	0	0	0	0	358	952
Av. no. per collection	11·00	34·89	14·00	7·00	3·38	0·25	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	39·78	110·30
% year June 1948–May 1949	—	35·14	14·10	7·05	3·40	0·25	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	40·06	—
Ain Anub													
No. flies	104	1082	2373	796	153	12	2	0	0	0	0	21	4543
Av. no. per collection	4·95	45·08	87·89	31·84	11·77	0·67	0·15	0·00	0·00	0·00	0·00	1·62	183·97
% year June 1948–May 1949	—	25·18	49·10	17·79	6·57	0·37	0·08	0·00	0·00	0·00	0·00	0·90	—
Sofar													
No. flies	0	19	3	4	2	0	0	0	0	0	0	6	34
Av. no. per collection	—	2·11	0·33	0·57	0·25	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·75	4·01
Chtaura													
No. flies	0	5	2	0	0	0		0	0	0	0	0	7
Av. no. per collection	—	0·56	0·22	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·78
Ksara box													
No. flies	—	—	6	5	1	0	0	0	0	0	0	0	12
Av. no. per collection	—	—	1·20	0·63	0·14	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·97
Ksara garden													
No. flies	—	—	1	10	2	0	0	0	0	0	0	0	13
Av. no. per collection	—	—	0·33	1·25	0·29	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·87
Species: *D. busckii*													
Beirut													
No. flies	66	39	0	0	0	0	0	1	0	0	0	125	231
Av. no. per collection	5·50	9·75	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·08	0·00	0·00	0·00	13·89	29·22
Asfouriye													
No. flies	39	40	2	0	0	2	2	0	0	3	0	152	240
Av. no. per collection	7·80	4·44	0·20	0·00	0·00	0·25	0·25	0·00	0·00	0·50	0·00	16·89	30·33
Ain Anub													
No. flies	326	1035	81	15	1	8	2	0	0	1	3	82	1554
Av. no. per collection	15·52	43·13	3·00	0·60	0·08	0·44	0·15	0·00	0·00	0·08	0·19	6·31	69·50
% year June 1948–May 1949	—	79·90	5·56	1·11	0·15	0·82	0·28	0·00	0·00	0·15	0·35	11·69	—

Table 2.—*Collection records for nine species for the period from January, 1947 through April 1948.*

	Jan.	Feb.	March	April	May	June	July	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	March	April	Totals
Species: *D. immigrans*														
Beirut														
No. flies	23	62	211	88	131	10	0	0	1	14	11	58	690	1299
No. collections (all species)	17	15	17	6	12	13	5	5	2	8	3	11	20	134
Av. no. per collection	1·35	4·13	12·41	14·67	10·92	0·77	0·00	0·00	0·50	1·75	3·67	5·27	34·50	89·94
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	99	400	15	0	—	—	5	2	10	85	616
No. collections (all species)	—	—	—	5	8	7	6	—	—	4	2	5	9	46
Av. no. per collection	—	—	—	19·80	50·00	2·14	0·00	—	—	1·25	1·00	2·00	9·44	85·63
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
No. collections (all species)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·2	—
Species: *D. subobscura*														
Beirut						0								
No. flies	4	9	9	2	0		0	0	0	0	2	12	6	44
Av. no. per collection	0·24	0·60	0·53	0·33	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·67	1·09	0·30	3·76
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	11	1	0	0	—	—	6	9	88	315	430
Av. no. per collection	—	—	—	2·20	0·13	0·00	0·00	—	—	1·50	4·50	17·60	35·00	60·93
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	57	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11·40	—
Species: *D. funebris*														
Beirut														
No. flies	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3
Av. no. per collection	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·25	0·00	0·09	0·00	0·34
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	12	34	5	0	0	0	0	0	0	10	61
Av. no. per collection	—	—	—	2·40	4·25	0·71	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	1·11	8·47
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·20	—

Species: *D. hydei*														
Beirut														
No. flies	4	0	15	9	22	4	0	0	0	0	0	4	2	60
Av. no. per collection	0·24	0·00	0·88	1·50	1·83	0·31	0·00	0·00	0·00	0·00	0·00	0·36	0·10	5·22
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	222	463	52	4	—	—	2	0	1	14	758
Av. no. per collection	—	—	—	44·40	57·88	7·43	0·67	—	—	0·50	0·00	0·20	1·56	112·64
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·00	—
Species: *D. buzzatii*														
Beirut														
No. flies	0	0	4	3	143	79	11	0	0	0	1	1	10	252
Av. no. per collection	0·00	0·00	0·24	0·50	11·92	6·08	2·20	0·00	0·00	0·00	0·33	0·09	0·50	21·86
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	1	38	114	75	—	—	0	0	0	2	230
Av. no. per collection	—	—	—	0·20	4·75	16·28	12·50	—	—	0·00	0·00	0·00	0·22	33·95
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·00	—
Species: *D. busckii*														
Beirut														
No. flies	3	3	18	16	3	13	0	0	1	1	0	0	14	72
Av. no. per collection	0·18	0·20	1·06	2·67	0·25	1·00	0·00	0·00	0·50	0·13	0·00	0·00	0·70	6·69
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	24	103	28	1	—	—	1	0	1	0	158
Av. no. per collection	—	—	—	4·80	12·87	4·00	0·17	—	—	0·25	0·00	0·20	0·00	22·29
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·20	—
Species: *D. lebanonensis*														
Beirut														
No. flies	2	0	1	1	8	10	0	0	0	1	0	1	2	26
Av. no. per collection	0·12	0·00	0·06	0·17	0·67	0·77	0·00	0·00	0·00	0·13	0·00	0·09	0·10	2·11
Ain Anub														
No. flies	—	—	—	1	87	19	0	—	—	4	0	2	3	116
Av. no. per collection	—	—	—	0·20	10·88	2·71	0·00	—	—	1·00	0·00	0·40	0·33	15·52
Chtaura														
No. flies	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—
Av. no. per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·00	—

Chtaura and Ksara. On the other hand *D. funebris* showed a winter absence at Ain Anub and Sofar. The species was present in minimal numbers throughout the summer at Ain Anub, Sofar, and Chtaura.

D. hydei never occurred in more than minimal numbers at Beirut during the periods covered by Tables 1 and 2. At the neighboring station, Asfouriye, it increased to an average number per collection of 9·00 during May, 1948 and 15·11 in May, 1949. The species flourished at Ain Anub during the spring of 1948, according to Tables 1 and 2. Fig. 3 shows the seasonal fluctuations at this station for the period from June, 1948, through May, 1949. The actual peak of population for the spring of 1948 is not shown in Fig. 3, since it occurred in May when an average number of 40·05 individuals per collections was reached. *D. hydei* was present throughout the summer at Ain Anub, but it underwent a winter absence at this station as may be seen in Fig. 3. According to Tables 1 and 2, this species increased slightly above minimal numbers at Sofar in June, 1948, but it occurred in minimal numbers only in the Bekaa valley during the spring and summer of 1948. Winter absences of *D. hydei* took place at Ain Anub, Sofar, Chtaura, and Ksara.

D. busckii expanded to slightly more than minimal numbers at Beirut and Asfouriye in May and June, 1948. After an absence of two or more months of warm weather, the species reappeared in a few scattered winter records. Definite population increases to average numbers of 13·89 and 16·89 occurred in May, 1949, at Beirut and Asfouriye, respectively. As in the case of the previously described species, a larger population of *D. busckii* was developed at Ain Anub than at any other station. Here the peak of the 1948 growing season for this species occurred in June. *D. busckii* was present in lower numbers throughout the summer until in December, 1948, it disappeared for a winter absence of two months at Ain Anub. At Sofar and Chtaura *D. busckii* developed a definite peak of population in June, 1948. Collection records were not begun at Ksara until mid-July. *D. busckii* dwindled to minimal numbers or less (scattered records) at Sofar, Chtaura, and Ksara during the summer. A winter absence of this species, followed by its reappearance and population increase in May, 1949, occurred at each of the latter three stations.

Although *D. lebanonensis* was found in a few scattered records at sometime during the spring or summer at all stations, the species expanded to minimal numbers or more at Ain Anub and Sofar only. At Ain Anub, *D. lebanonensis* exceeded minimal numbers in May, 1947, and May, 1948, according to Tables 1 and 2. The species was not found at either Ain Anub or Sofar during the winter of 1949.

The seasonal fluctuations of *D. simulans* and *D. melanogaster*, determined from the male count, are graphically represented in Fig. 4, derived from Table 3. Here monthly percentages from June, 1948, through May, 1949, are shown in histogram form. The percentages of *melanogaster* males, indicated in outline, are placed above the *simulans* male percentages in cases where *simulans* males occurred during the month. In the absence of *simulans* males, the *melanogaster* male percentage is placed on level with the base line of the graph. The lacking October, 948, percentages are indicated by a dotted line.

Of the two species, Fig. 4 shows that *D. simulans* is dominant in numbers at all stations except Sofar. *D. simulans* developed three separate peaks of population at the lower stations of Beirut and Asfouriye within the year. No absences of *D. simulans* occurred during the period studied at the two former stations, whereas both species underwent a winter absence at the four higher stations. Throughout the year, *D. melanogaster* barely exceeded minimal numbers at Beirut and Asfouriye, if allowance is made for the frequency of females. At Ain Anub, Fig. 4 shows that *D. simulans* was maintained in a fair-sized population from June until cold weather in early December, 1948. *D. melanogaster* was present in slightly more than minimal numbers during the same period, according to Table 3. A single sharp peak of population for both species occurred at Chtaura, Ksara, and

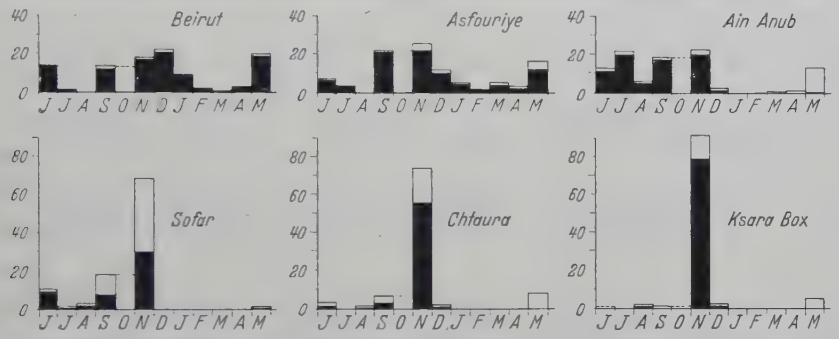


Fig. 4. Seasonal fluctuations in *D. melanogaster* (in outline) and *D. simulans* (in solid color) male populations from June, 1948 through May, 1949.

Sofar in November, 1948. During this month, grapes were ripe in the Bekaa valley; apples, at Sofar. The frequency of *D. simulans* was approximately three times that of *D. melanogaster* at Chtaura; approximately seven times that of *D. melanogaster* at Ksara box. At the coolest station, Sofar, the frequency of *D. melanogaster* slightly exceeded that of *D. simulans* at the peak period. The only month of the year from June, 1948 through May, 1949, at any station in which the frequency of *D. melanogaster* far surpassed that of *D. simulans* was in May, 1949, at Ain Anub, Chtaura, and Ksara, following a winter absence of both species. At Sofar, *D. melanogaster* and *D. simulans* males had only just appeared in May, 1949, after a winter absence. Table 4 shows that the frequency of *D. melanogaster* males at Ain Anub exceeded that of *D. simulans* in April, 1947; but no such superiority of *D. melanogaster* over *D. simulans* took place in the early spring of 1948 at this station.

Since *melanogaster-simulans* females appear earlier than the corresponding males in the spring following winter absence, some breeding tests were made of the first such females found in the spring. The first 19 *melanogaster-simulans* females collected at Ain Anub on March 25 proved on breeding tests to be *melanogaster*. Five females taken on the same date at Ksara were all *melanogaster*. At Asfouriye where both species were found all winter, tests of 5 females trapped on March 11 and of 12 females trapped on March 23 yielded both *melanogaster* and *simulans* male progeny.

The relation of temperature to the competition between *D. simulans* and *D. melanogaster* will be considered more in detail later.

Table 3.—*Collection records for D. melanogaster and D. simulans for the period from May, 1948 through May, 1949.*

	May	June	July	Aug.	Sept.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	March	April	May	Totals
Beirut													
No. melanogaster males	42	0	0	5	30	6	8	1	1	1	2	11	107
No. simulans males	2681	108	6	3	254	262	285	203	18	23	37	333	4213
No. mel.-sim. females	3779	140	14	38	258	180	123	185	25	52	35	498	5327
Av. no. mel. males per collection	3·50	0·00	0·00	0·63	2·73	0·75	1·14	0·08	0·14	0·06	0·29	1·22	10·54
Av. no. sim. males per collection	223·42	27·00	1·00	0·38	23·09	32·75	40·71	16·92	2·57	1·44	5·29	37·00	411·57
Av. no. mel.-sim. females per collection	314·92	35·00	2·33	4·75	23·45	22·50	17·57	15·42	3·57	3·25	5·00	55·33	503·09
% mel. males of total males	—	0·00	0·00	0·32	1·40	0·38	0·58	0·04	0·07	0·03	0·15	0·63	3·60
% sim. males of total males	—	13·83	0·51	0·19	11·83	16·78	20·86	8·67	1·32	0·74	2·71	18·96	96·40
% flies both species of total count	—	16·17	0·87	1·50	12·85	14·61	15·50	8·46	1·64	1·24	2·76	24·40	—
Asfouriye													
No. melanogaster males	17	8	4	0	5	54	29	4	0	11	7	68	207
No. simulans males	391	94	52	1	271	280	125	43	7	34	13	174	1485
No. mel.-sim. females	652	221	99	8	264	211	65	32	5	58	25	318	1958
Av. no. mel. males per collection	3·40	0·89	0·40	0·00	0·63	6·75	3·63	0·67	0·00	1·83	1·75	7·56	27·51
Av. no. sim. males per collection	78·20	10·44	5·20	0·13	33·88	35·00	15·63	7·17	1·75	5·67	3·25	19·33	215·65
Av. no. mel.-sim. females per collection	130·40	24·56	9·90	1·00	33·00	26·38	8·13	5·33	1·25	9·67	6·25	35·33	291·20
% mel. males of total males	—	0·55	0·25	0·00	0·39	4·18	2·25	0·41	0·00	1·13	1·08	4·68	14·92
% sim. males of total males	—	6·46	3·22	0·08	20·97	21·66	9·67	4·44	1·08	3·51	2·01	11·98	85·08
% flies both species of total count	—	11·13	4·81	0·35	20·94	21·13	8·50	4·09	0·93	5·33	3·49	19·30	—
Ain Anub													
No. melanogaster males	554	254	256	76	40	214	24	0	0	24	92	1072	2606
No. simulans males	1235	1878	3579	949	1521	2488	162	0	0	0	3	27	11·842
No. mel.-sim. females	2827	2485	4782	1549	1394	2069	195	4	0	66	196	1002	16·569
Av. no. mel. males per collection	26·38	10·58	9·48	3·04	3·08	11·89	1·85	0·00	0·00	2·00	5·75	82·46	156·51
Av. no. sim. males per collection	58·81	78·25	132·56	37·96	117·00	138·22	12·46	0·00	0·00	0·00	0·19	2·08	577·53
Av. no. mel.-sim. females per collection	134·62	103·54	177·11	61·96	107·23	114·94	15·00	0·33	0·00	5·50	12·25	77·08	809·56
% mel. males of total males	—	1·63	1·46	0·47	0·47	1·83	0·29	0·00	0·00	0·31	0·89	12·71	20·06
% sim. males of total males	—	12·06	20·43	5·85	18·03	21·30	1·92	0·00	0·00	0·00	0·03	0·32	79·94
% flies both species of total count	—	14·53	24·11	7·78	17·17	20·02	2·21	0·02	0·00	0·57	1·37	12·21	—
Sofar													
No. melanogaster males	4	32	30	43	267	1179	6	0	0	0	0	10	1571
No. simulans males	12	278	53	15	206	934	2	0	0	0	0	7	1507

No. mel.-sim. females	51	336	75	61	338	1969	7	0	0	0	2	31	2870
Av. no. mel. males per collection	0·67	3·56	3·33	6·14	33·38	147·38	0·86	0·00	0·00	0·00	0·00	1·25	196·57
Av. no. sim. males per collection	2·00	30·89	5·89	2·14	25·75	116·75	0·29	0·00	0·00	0·00	0·00	0·88	184·59
Av. no. mel.-sim. females per collection	8·50	37·33	8·33	8·71	42·25	246·13	1·00	0·00	0·00	0·00	0·50	3·88	356·63
% mel. males of total males	—	0·93	0·86	1·60	8·75	38·66	0·22	0·00	0·00	0·00	0·00	0·32	51·34
% sim. males of total males	—	8·10	1·55	0·56	6·76	30·65	0·07	0·00	0·00	0·00	0·00	0·23	47·92
% flies both species of total count	—	9·88	2·41	2·33	13·95	70·22	0·29	0·00	0·00	0·00	0·06	0·82	—
Chtaura													
No. melanogaster males	35	58	11	21	163	656	55	0	0	0	0	380	1379
No. simulans males	56	124	7	35	196	2078	58	1	0	0	0	1	2556
No. mel.-sim. females	204	281	41	63	390	2033	134	1	0·00	0	0	441	3588
Av. no. mel. males per collection	4·38	6·44	1·22	3·50	18·11	93·71	6·88	0·00	0·00	0·00	0·00	47·50	181·74
Av. no. sim. males per collection	7·00	13·78	0·78	5·83	21·78	296·85	7·25	0·25	0·00	0·00	0·00	0·13	353·65
Av. no. mel.-sim. females per collection	25·50	31·22	4·56	10·50	43·33	290·43	16·75	0·25	0·00	0·00	0·00	55·13	477·67
% mel. males of total males	—	1·22	0·23	0·66	3·45	17·88	1·31	0·00	0·00	0·00	0·00	9·06	33·81
% sim. males of total males	—	2·62	0·14	1·11	4·15	56·64	1·38	0·04	0·00	0·00	0·00	0·02	66·10
% flie both species of total count	—	5·26	0·67	2·03	8·52	69·76	3·16	0·05	0·00	0·00	0·00	10·52	—
Ksara box													
No. melanogaster males	—	—	2	26	19	268	8	0	0	0	2	129	454
No. simulans males	—	—	1	8	11	1683	17	0	0	0	0	4	1724
No. mel.-sim. females	—	—	5	49	34	1838	27	0	0	5	2	118	2078
Av. no. mel. males per collection	—	—	0·40	3·26	2·71	38·29	1·00	0·00	0·00	0·00	0·50	16·13	62·29
Av. no. sim. males per collection	—	—	0·20	1·00	1·57	240·43	2·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·50	245·83
Av. no. mel.-sim. females per collection	—	—	1·00	6·13	4·86	262·57	3·38	0·00	0·00	1·67	0·50	14·75	294·86
% mel. males of total males	—	—	0·13	1·06	0·88	12·49	0·33	0·00	0·00	0·00	0·16	5·26	20·31
% sim. males of total males	—	—	0·07	0·33	0·05	78·40	0·69	0·00	0·00	0·00	0·00	0·16	79·70
% flies both species of total count	—	—	0·27	1·73	1·28	89·98	1·08	0·00	0·00	0·28	0·17	5·22	—
Ksara garden													
No. melanogaster males	—	—	8	41	83	104	0	0	0	1	1	126	364
No. simulans males	—	—	2	46	46	1351	1	0	0	0	0	4	1450
No. mel.-sim. females	—	—	12	122	124	1771	3	0	0	2	3	133	2170
Av. no. mel. males per collection	—	—	2·67	5·13	11·86	14·86	0·00	0·00	0·00	0·33	0·25	15·75	50·85
Av. no. sim. males per collection	—	—	0·67	5·75	6·57	193·00	0·13	0·00	0·00	0·00	0·00	0·50	206·62
Av. no. mel.-sim. females per collection	—	—	4·00	15·25	17·71	253·00	0·38	0·00	0·00	0·67	0·75	16·63	308·39
% mel. males of total males	—	—	1·03	1·99	4·61	5·77	0·00	0·00	0·00	0·13	0·10	6·12	19·75
% sim. males of total males	—	—	0·27	2·33	2·55	74·96	0·05	0·00	0·00	0·00	0·00	0·20	80·26
% flies both species of total count	—	—	1·30	4·62	6·39	81·44	0·09	0·00	0·00	0·18	0·18	5·81	—

Table 4.—*Collection records for D. melanogaster and D. simulans for the period from January, 1947 through April, 1948.*

	Jan.	Feb.	March	April	May	June	July	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	March	April	Totals
Beirut														
No. melanogaster males	48	8	17	11	33	17	2	8	1	23	2	1	12	183
No. simulans males	723	558	1161	143	226	109	2	98	4	829	106	92	612	4663
No. mel.-sim. females	321	566	1280	186	377	172	10	61	4	269	52	100	831	4229
Av. no. mel. males per collection	2·82	0·53	1·00	1·83	2·75	1·31	0·40	1·60	0·50	2·88	0·67	0·09	0·60	16·98
Av. no. sim. males per collection	42·53	37·20	68·29	23·83	18·83	8·38	0·40	19·60	2·00	103·63	35·33	8·36	30·60	398·98
Av. no. mel.-sim. females per collection	18·88	37·73	75·29	31·00	31·42	13·23	2·00	12·20	2·00	33·63	17·33	9·09	41·55	325·35
Ain Anub														
No. melanogaster males	—	—	—	161	339	52	1	—	—	6	0	1	5	565
No. simulans males	—	—	—	17	184	20	0	—	—	40	4	0	25	290
No. mel.-sim. females	—	—	—	190	914	201	4	—	—	38	2	1	61	1411
Av. no. mel. males per collection	—	—	—	32·20	42·38	7·43	0·17	—	—	1·50	0·00	0·20	0·56	84·44
Av. no. sim. males per collection	—	—	—	3·40	23·00	2·86	0	—	—	10·00	2·00	0·00	2·78	44·04
Av. no. mel.-sim. females per collection	—	—	—	38·00	114·25	28·71	0·67	—	—	9·50	1·00	0·20	6·78	199·11
Chtaura														
No. melanogaster males	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—
No. simulans males	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
No. mel.-sim. females	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—
Av. no. mel. males per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·00	—
Av. no. sim. males per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·20	—
Av. no. mel.-sim. females per collection	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1·40	—

Differences in seasonal fluctuations in *Drosophila* populations at the two Ksara stations were not pronounced. The distance of 150 ft. between the two collecting spots was probably sufficiently great that they did not interfere with one another. DOBZHANSKY and EPLING (1944) showed that the attractive radius of small banana traps for *D. pseudoobscura*, a species which ranges farther than is usual, was not much more than 30 metres. In the winter a few *D. subobscura* and *D. funebris* individuals were taken at Ksara box, where the collection spot was exposed to the sun in early afternoon (the collection time). No winter flies were seen from December 18, 1948, to March 25, 1949, at Ksara garden. During May, 1949, when the various *Drosophila* species were increasing, the more humid Ksara garden attracted a total of 667 individuals compared with 479 individuals for Ksara box. The dates of the first spring appearance following winter absence of the different species were quite similar, taking into account that only two collections a week were made at Ksara. Thus *D. melanogaster* (tested) females were first seen on March 25, 1949, at both stations; *D. melanogaster* males, on April 1, at Ksara

Table 5.—*Drosophila species occurring at the various stations in more than minimal numbers at some time during the year, during the period studied.*

	Station					
	Beirut	Asfouriye	Ain Anub	Sofar	Ksara	Chtaura
Altitude in feet . .	67	400	1289	4524	3018	2867
Climate type . . .	Maritime			Temperate altitude	Continental	
Species	*immigrans*	*immigrans*	*immigrans*	*immigrans*	*immigrans*	*immigrans*
	busckii	*busckii*	*busckii*	*busckii*	*busckii*	*busckii*
	melanogaster	*melanogaster*	*melanogaster*	*melanogaster*	*melanogaster*	*melanogaster*
	simulans	*simulans*	*simulans*	*simulans*	*simulans*	*simulans*
	buzzatii	*buzzatii*	*buzzatii*	*hydei*	*hydei*	*hydei*
		hydei	*hydei*	*funebris*	*funebris*	*funebris*
			funebris	*subobscura*	*subobscura*	*subobscura*
			subobscura			
			lebanonensis			

box; March 25, at Ksara garden. *D. simulans* males were first observed on May 10 at Ksara box; May 17, at Ksara garden. *D. immigrans* first appeared on May 7 at both stations. *D. busckii* was first seen on May 10 at Ksara box; May 7, at Ksara garden. *D. hydei* first appeared on May 7 at Ksara box; May 17, at Ksara garden. *D. funebris* appeared first at Ksara garden on April 1. *D. subobscura* was first collected at Ksara garden in more than minimal numbers, indicating that it had been present for at least a generation without being trapped.

Table 5 shows the species at each station which were found in more than minimal numbers at some time during the year. Ain Anub, in the maritime climate area, is seen to support the greatest variety of *Drosophila* species. All of the nine common species were able to expand beyond minimal numbers at this station. Although *D. buzzatii* developed peaks of population at the three lower stations, it was an uncommon species at Sofar and the Bekaa valley stations. On the other hand, *D. funebris* and *D. subobscura*, though found during the winter at the two lower stations, Beirut and Asfouriye, occurred in more than minimal numbers only at the four higher stations. *D. hydei* was able to expand at all stations except Beirut.

Preliminary collections were made in the spring summer and autumn of 1947 at seven localities, shown on the map in Fig. 1, other than the six permanent stations. These places with their respective altitudes are as follows: Byblos (32·8 ft.); Djamhour (1280 ft.); Chartoun (2297 ft.); Shimlan (ca. 2000 ft.); Ainab (2395 ft.); Toursaya (2953 ft.); and Azouniye (3606 ft.). All of these collection spots lie in the maritime climate area except the last, Azouniye, which possesses a temperate altitude climate. Collections in these localities yielded the variety of species expected, considering the altitude, time of year, and the more intensive collections at corresponding permanent stations.

C. Rare species.

The five rare species; i.e., *D. phalerata*, *D. repleta*, n. sp. "black *victoria*;" n. sp. "gray *victoria*," and *Scaptomyza graminum* never reached minimal numbers at any time during the period studied. With the exception of *D. repleta*, which was found only at Beirut, these species were nevertheless found at two or more

widely separated stations. *Scaptomyza graminum*, for example, was taken at Beirut, Asfouriye, and also at the D'har el Betr Pass (5000 ft.). Some of these species were probably attracted but infrequently to the fruit baited traps, so no idea of their population numbers can be had. Most of the records of "rare" species were made in the spring, a time at which the populations of many of the common species were expanding at various stations.

D. Population expansion and decline.

In Table 6 a comparison is made of the month(s) during which the year's greatest population expansion occurred at the various collecting stations. The information given in Table 6 is derived from Tables 1, 2, 3, and 4. In cases of a single spring period of population increase per year, Table 6 shows that the earlier

Table 6.—*Periods of maximum expansion of Drosophila populations.*

Species	Station	Time of maximum expansion per growing season
D. immigrans	Beirut	April, 1947; May, 1948; May, 1949
	Asfouriye	May, 1948; probably May, 1949
	Ain Anub	May, 1947; May, 1948
	Sofar	June, 1948
	Chtaura	June, 1948
D. subobscura	Ain Anub	April, 1948; April, 1949
	Sofar	May, 1949
	Chtaura	April, 1948; April, 1949
	Ksara	April, 1949
D. funebris	Ain Anub	May, 1947; June and July, 1948
	Sofar	June, 1948
	Chtaura	June, 1948
D. hydei	Asfouriye	Probably, May, 1949
	Ain Anub	May, 1947; May, 1948
	Sofar	June, 1948
	Chtaura	June, 1948
D. buzzatii	Beirut	May, 1947; June, 1948
	Asfouriye	June, 1948
	Ain Anub	June, 1947; July, 1948
D. busckii	Beirut	April, 1947; June, 1948; probably May, 1949
	Asfouriye	May, 1948; probably May, 1949
	Ain Anub	May, 1947; June, 1948
	Sofar	June, 1948; probably May, 1949
	Chtaura	June, 1948; probably May, 1949
	Ksara	Probably May, 1949
D. lebanonensis	Ain Anub	May, 1947; June, 1948
	Sofar	July, 1948
D. melanogaster (male count)	Asfouriye	November, 1948; probably May, 1949
	Ain Anub	April and May, 1947; May, 1948; probably May, 1949
	Sofar	November, 1948
	Chtaura	November, 1948 probably May, 1949
	Ksara	November, 1948; probably May, 1949
D. simulans (male count)	Beirut	March, 1947; January, 1948; May, 1948; December, 1948; probably May, 1949
	Asfouriye	May, 1948; November, 1948; probably May, 1949
	Ain Anub	May, 1947; July, 1948; November, 1948
	Sofar	November, 1948
	Chtaura	November, 1948
	Ksara	November, 1948

periods of expansion for a given species occurred at the lower altitude stations. The later periods of spring or summer population increase took place at higher altitude stations, as Dobzhansky and Epling (1944) likewise found. Thus *D. immigrans* developed a definite population increase in May, 1948, at Beirut, Asfouriye, and Ain Anub, but the period of expansion for this species at Sofar

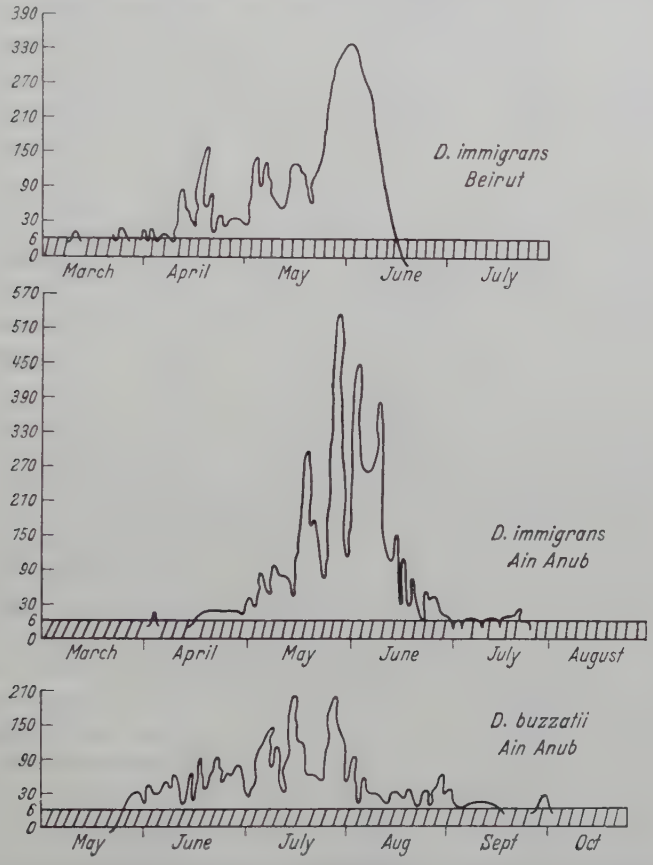


Fig. 5. Population expansion and decline of *D. immigrans* at Ain Anub and at Beirut and of *D. buzzati* at Ain Anub, 1948.

and Chtaura occurred in June, 1948. Similarly, *D. buzzatii* had a peak of population at Beirut and Asfouriye in June, 1948; at Ain Anub, in July, 1948.

The graphic representation of a population expansion and its decline varies according to the species, collecting station, and the growing season studied, as Fig. 5 shows. Here are presented *D. immigrans* at Ain Anub and Beirut, and *D. buzzatii* at Ain Anub, in the spring of 1948. Almost daily col ection was possible at these stations during the period chosen. In Fig. 5 individual collection numbers are plotted against time. Only collection numbers exceeding 5 are placed above the base line. Numbers below this figure fall in the shaded portion below the base line. Thus in Fig. 5a, collection numbers of *D. immigrans* at Ain Anub in the spring of 1948 rose consistently above 5 per collection (minimal numbers) in mid-April. A rapid increase from this date led to the peak period of 22 days

extending from May 19 through June 9. A sharp but not catastrophic decline in numbers of *D. immigrans* at Ain Anub is seen in Fig. 5a, the species reaching a pessimum during the latter quarter of July.

The expansion of *D. immigrans* at Beirut, shown in Fig. 5b, began a little earlier in the spring of 1948 than at Ain Anub. The population did not expand to as high numbers at Beirut as at the latter station. A catastrophic decline from the peak period to minimal numbers on June 14 occurred partly because the main source of food was cut off by the plucking and dumping in a ravine of all oranges in a nearby garden on May 18. Here they served as a breeding ground for 27 days longer. *D. immigrans* was not observed in Beirut from June 29 to December 20 1948.

The population expansion of *D. buzzatii* at Ain Anub in 1948 is represented in Fig. 5c. This species, with a life cycle of approximately 23 days at the peak period, exceeded minimal numbers in late May. The time of maximum expansion lasted the month of July, or a little more than one generation. Collection numbers were not as high for *D. buzzatii* as for *D. immigrans* at the same station. Fig. 5c shows a slow decline of *D. buzzatii* covering two months before a pessimum was attained.

With the onset of cold weather in mid-November, 1948, catastrophic reductions of the *melanogaster-simulans* populations from their autumnal peaks took place at the cooler stations, Sofar, Chtaura, and Ksara. At Sofar, Table 3 shows that the *melanogaster* male population reached a peak of an average number of 147·38 flies per collection in November, which was reduced to 0·86 males per collection in December. At the same station the *simulans* male population was reduced from an average number of 116·75 per collection in November to 0·29 per collection in December. A total of 1399 *melanogaster-simulans* males and females at Sofar on November 12 dropped to 408 on November 16; 244, on November 20; 231, on November 23; and 6, on November 27. With the last *melanogaster-simulans* female collected on December 11, no more *Drosophila* were seen at Sofar until the following spring. Similar decreases in the *melanogaster-simulans* populations occurred at this time at Chtaura and Ksara. The first major reduction occurred at all three stations when mean daily temperatures dropped from 64–65° F. on November 12 to 43–44° F. on November 16. Minimum night temperatures on November 15 at these stations varied from 30·4 to 34·0° F.

E. Meteorological records.

Meteorological data are presented in Table 7 for all six stations. Mean monthly temperatures were calculated from mean daily temperatures, derived from eight readings per day taken from the weekly thermograph recordings. Fig. 6 shows a weekly thermograph recording for January 4–9, 1949, at Ain Anub, Sofar (using Fahrenheit instrument), and Chtaura (using Centigrade instrument). The daily temperature fluctuations in the areas of maritime climate, temperate altitude climate, and continental climate, respectively, are illustrated in Fig. 6. Night and day temperatures do not differ widely in the recordings for Ain Anub and Sofar, the reverse being true for Chtaura.

The mean monthly relative humidity percentages given in Table 7 were calculated from daily means, derived from eight readings per day taken from the

Table 7.—*Meteorological records.*

Year, month	Mean temperature °F.	Percent relative humidity	Rainfall inches
Beirut (Altitude: 67 feet)			
1947			
January	56·8	84·1	15·5
February	59·9	80·7	3·7
March	64·5	80·9	1·7
April	69·0	78·9	0·8
May	75·0	78·9	0·8
June	80·2	73·3	0·1
July	84·6	63·8	0·0
August	85·5	66·2	0·0
September	81·7	66·3	0·07
October	75·7	69·9	2·3
November	67·8	74·7	10·0
December	63·5	72·6	2·2
1948			
January	59·9	76·7	7·6
February	57·6	78·3	11·2
March	56·7	80·6	7·9
April	65·3	83·4	2·3
May	72·1	84·5	1·9
June	79·1	70·7	0·0
July	83·0	71·4	0·0
August	83·7	75·4	0·02
September	80·8	83·6	1·0
October	74·7	81·4	0·4
November	66·6	81·4	7·0
December	56·6	82·2	9·2
1949			
January	54·5	79·9	11·2
February	52·9	81·7	9·1
March	59·5	77·2	4·0
April	61·0	84·5	5·2
May	74·5	82·9	0·0
Asfouriye (Altitude: 400 feet)			
1948			
October	—	54·8	0·3
November	—	56·7	5·4
December	—	65·2	8·9
1949			
January	50·9	58·2	4·8
February	49·8	62·2	13·5
March	57·0	60·4	5·7
April	56·8	68·0	4·3
May	72·6	61·7	0·0
Ain Anub (Altitude: 1289 feet)			
1948			
July	76·0	—	0·0
August	76·3	63·7	0·0
September	75·2	61·8	0·0
October	70·4	52·6	0·02
November	60·6	60·5	12·7
December	50·4	69·5	8·6
1949			
January	48·3	62·9	12·9
February	45·5	66·6	12·9
March	54·5	63·2	7·1
April	56·8	66·5	—
May	71·2	56·1	0·0
Sofar (Altitude: 4524 feet)			
1948			
July	72·9	—	0·0
August	73·7	54·5	0·0
September	68·3	61·0	0·0
October	63·5	50·1	0·4
November	52·0	53·0	7·0
December	40·0	80·7	9·6
1949			
January	42·9	66·9	5·6
February	38·0	80·6	10·4
March	43·6	70·9	10·5
April	48·9	68·3	5·1
May	67·8	41·1	0·04
Chtaura (Altitude: 2867 feet)			
1948			
November	—	—	3·9
December	42·7	—	5·8
1949			
January	40·9	87·5	3·7
February	38·0	81·7	11·5
March	48·1	79·3	6·8
April	52·5	76·6	5·3
May	67·8	65·1	0·04
Ksara box (Altitude: 3018 feet)			
1948			
May	63·1	56·0	0·8
June	69·3	47·0	0·0
July	75·7	36·0	0·0
August	76·3	41·0	0·0
September	69·8	51·0	0·0
October	63·1	48·0	0·28
November	54·5	62·0	3·4
December	43·2	82·0	5·1
1949			
January	40·6	69·0	6·4
February	39·4	74·0	7·4
March	47·1	72·0	4·8
April	50·5	57·0	3·4
May	67·3	45·7	0·3

humidigraph recordings. The relative humidity percentages for Beirut on the coast varied from 70·7 in June, 1948, to 84·5 in May, 1948, and April, 1949. The relative humidity percentages of Asfouriye and Ain Anub, also in the maritime zone, were in the fifties and sixties. At Sofar, Chtaura, and Ksara, relative

humidity percentages were high during the rainy season but they fell to as low as the fifties and sixties when the winter rains ceased. Chtaura showed somewhat higher relative humidity than its neighboring station, Ksara, probably on account of the large number of shade trees at the former station.

A definite autumn-winter rainy season and late spring-summer dry season existed throughout the six stations. Precipitation of rain was heavier at Beirut, Asfouriye, and Sofar than at Chtaura and Ksara, according to Table 7.

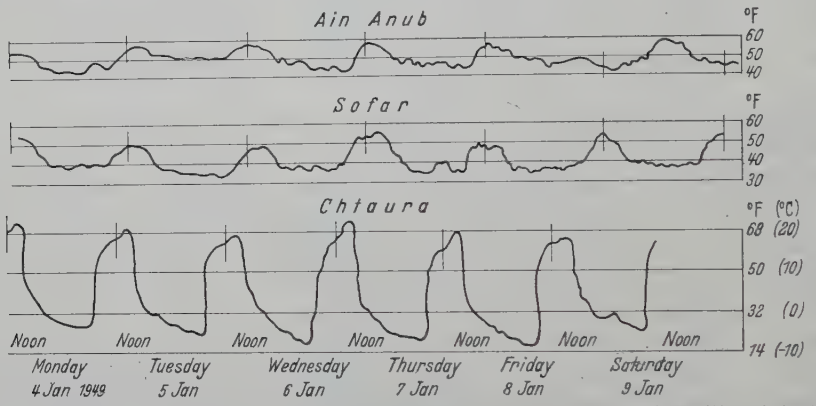


Fig. 6. Thermograph records for January 4–9, 1949, from collecting stations at maritime (Ain Anub), temperate altitude (Sofar), and continental (Chtaura) climatic areas, respectively, illustrating daily temperature variations.

F. Relation of temperature to the competition between D. melanogaster and D. simulans.

In Table 8 the various collecting stations are grouped according to the relative frequencies of male *melanogaster* and *simulans* populations together with the corresponding mean monthly temperatures as follows: The first group consists of stations where the monthly average number of *melanogaster* males per collection at a period of population expansion for one or both species greatly exceeded the corresponding average number of *simulans* males per collection. These figures are derived from Tables 3 and 4. The second group includes stations where the monthly average number of *simulans* males per collection far exceeded the corresponding average number of *melanogaster* males, at a time of population expansion for one or both species. The station Sofar, in November, 1948, stands alone in the third group as a case in which both species were in a state of expansion with approximately equal male frequencies.

Table 8 shows that *D. simulans* is a hardy species which developed population expansions within a mean monthly temperature range of 52·0° F. and 80·9° F. The superiority of *D. melanogaster* over *D. simulans* only at stations where both species had disappeared during the winter may be dependent upon the earlier spring awakening of *D. melanogaster* from winter dormancy than *D. simulans*. This is in agreement with PATTERSON's (1943) studies in which *D. melanogaster* reappeared before *D. simulans* after a hard winter cold spell at Austin, Texas. In the fall at Austin, *D. simulans* far exceeded *D. melanogaster* in frequency. In the present author's cases, *D. simulans* surpassed *D. melanogaster* at Chtaura and

Ksara in November, 1948, when both species were undergoing a sharp expansion. The temperature influence on the competition between these species appears to be indirect: temperature changes induce the onset of winter dormancy for most species and probably also the spring awakening from the winter dormant state. The fact that *D.* melanogaster never exceeded minimal numbers at Beirut and Asfouriye may be owing to a lack of winter absence here, so that populations of its superior competitor, *D. simulans*, were not long curtailed in the winter.

Table 8.—*Relation between temperature and population size of D. melanogaster and D. simulans at a time of expansion of one or both species.*

Station	Period	Mean monthly temperature ° F.
Frequency of *melanogaster* males far exceeds that of *simulans* males		
Ain Anub	April and May, 1947	No records
Ain Anub	May, 1949	71·2
Chtaura	May, 1949	67·8
Ksara box	May, 1949	67·3
Frequency of *simulans* males far exceeds that of *melanogaster* males		
Beirut	January, 1947	56·8
Beirut	March, 1947	64·5
Beirut	January, 1948	59·1
Beirut	May, 1948	72·1
Beirut	September, 1948	80·9
Beirut	November, 1948	66·6
Beirut	December, 1948	56·6
Beirut	May, 1949	74·5
Asfouriye	May, 1948	No records
Asfouriye	September, 1948	No records
Asfouriye	November, 1948	No records
Ain Anub	June, 1948	No records
Ain Anub	July, 1948	76·0
Ain Anub	November, 1948	60·6
Sofar	June, 1948	No records
Chtaura	November, 1948	No records
Ksara box	November, 1948	54·4
Frequency of *melanogaster* males and *simulans* males nearly the same		
Sofar	November, 1948	52·0

G. Temperature and winter dormancy.

The disappearance of a *Drosophila* species from collections during two or more winter months, termed "winter absence" or "winter dormancy" is a common feature of seasonal fluctuations. Just as the large populations of *D. melanogaster* and *D. simulans* were drastically reduced with the onset of mean temperatures of about 44° F. on November 16, so smaller populations of other species disappeared at the four higher stations between mid-November and mid-December. The range of mean daily temperatures of the week preceding the disappearance of a given species at the various stations showed a close similarity in most cases. The lowest of such weekly ranges in degrees Fahrenheit for any station at which the respective species became absent in the winter are as follows: *D. immigrans* at Ksara box, 41·0–47·1°; *D. busckii* at Ain Anub, 48·1–54·9°; *D. simulans* at Chtaura, 37·4–41·7°; *D. melanogaster* at Sofar, 42·5–44·9°; *D. hydei* at Sofar, 36·8–52·3°; *D. buzzatii* at Ain Anub, 48·1–54·1°. *D. funebris* and *D. subobscura* were found at lower temperatures in the Bekaa valley during the winter than those at which they disappeared at Sofar and Ain Anub, respectively.

At Sofar, the coldest station, no *Drosophilae* were found from December 11, 1948, to April 1, 1949. Table 7 shows that the mean monthly temperatures of December, January, February, and March at Sofar were 40·0° F., 42·9° F., 38·0°F., and 43·6° F., respectively. Night temperatures were frequently freezing or near freezing. Daytime maximum temperatures were usually not more than 7° F.

higher than the mean. The catastrophic reduction of *Drosophila* populations in late November, described previously, indicates that winter absence of all species at this station is dependent directly upon the low temperatures existing.

At the Bekaa valley stations of Chtaura and Ksara, all *Drosophilae* except *D. funebris* and *D. subobscura* were absent during two or more months of the winter. Although corresponding mean monthly temperatures at these stations and at Sofar were very similar, according to Table 7, the daily thermal variation in the Bekaa valley was great. Here winter night minimum temperatures frequently fell to as low as 21° F., daytime maximum temperatures often rising briefly to from 55° F. to 70° F. Traps were visited during the time of maximum temperatures. Apparently a food supply sufficient to maintain minimal numbers of *D. subobscura* and *D. funebris* existed during the winter and the rise in temperature during the middle of the day allowed these flies actively to feed for a short period daily.

With the exception of two *D. immigrans* and four *melanogaster-simulans* females, no *Drosophilae* were found in the almost daily collections at Ain Anub from December 22, 1948 to March 11, 1949. The mean monthly temperatures for January and February at this station were 48·3° F. and 45·5° F., respectively. Corresponding mean maximum temperatures for these months were 55·3° F. and 50·0° F. Mean minimum monthly temperatures for Ain Anub during January and February, 1949, were 46·0° F. and 41·4° F., respectively. The lowest temperature occuring at any time this two-month period at Ain Anub was 32° F. on the nights of February 8 and 9. Freezing night temperatures are thus not required for inducing *Drosophilae* to enter a dormant form for the winter. During the milder winter of 1948 at Ain Anub, *D. subobscura*, *D. immigrans*, and *D. simulans* were found in more than minimal numbers and *D. lebanonensis*, *D. hydei*, and *D. melanogaster* occurred in a few scattered records. Hence it is thought that mean temperatures continuously below 50° F. in a climatic area where little night and day thermal variation occurs suffice to cause most species to become dormant for the winter.

Only *D. buzzatii* was absent during the autumn and winter at the warmest stations, Beirut and Asfouriye. With the exception of a single old-appearing individual found on February 3, 1948, no *D. buzzatii* were found at Beirut during the three winter seasons (January and February), 1947, 1948, and 1949, or during the winter of 1949 at Asfouriye. Mean daily temperatures were never below 50° F. for any lenght of time during this period. Exhaustion of a specific foodstuff before the onset of cold weather may have been responsible for the autumn and winter absence of this species at the two warmest stations.

H. Lowest temperatures at which imagines were collected.

The lowest temperatures at which imagines were taken from the trap cans give an idea of the lowest temperature at which flies move about in search of food. Table 9 presents the temperatures at which flies were collected on cold days at Sofar, Ain Anub, and Beirut. Since it is possible that flies found in the traps may have entered during the warmest time of the preceding day, the maximum temperature of the day before collection is also given in Table 9. According to this Table, low absolute temperatures at which *Drosophilae* entered traps were in general from 50–59° F. as DOBZHANSKY and EPLING (1943) also observed. The lowest

Table 9.—*Lowest temperatures at which imagines were collected.*

Station	Date	Temperature at time collection ° F.	Maximum temperature previous day ° F.	Flies collected
Sofar	4. 12. 48	50	47	2 *mel.-sim.* females
Sofar	7. 12. 48	56	55	2 *mel.-sim.* females
Sofar	11. 12. 48	44	43·5	1 *mel.-sim.* female
Sofar	1. 4. 49	48	50·5	2 *subobscura*
Sofar	8. 4. 49	53·5	43·5	1 *mel.* male; 4 *subobscura*
Sofar	18. 4. 49	51·5	59	1 *mel.-sim.* female; 20 *subobscura*
Ain Anub . .	2. 2. 49	50	53·5	1 *immigrans*
Ain Anub . .	11. 3. 49	50	51	1 *subobscura*
Beirut . . .	8. 2. 49	44·8	51·8	1 *mel.* male; 16 *sim.* males; 13 *mel.-sim.* females; 1 *immigrans*; 6 *Scaptomyza graminum*

record in the present work was the trapping of a *melanogaster* or *simulans* female at 44° F. at Sofar, the maximum temperature of the preceding day being 43·5° F.

I. Temperature and the first spring appearance.

The appearance of a species after a winter absence, followed by its constant presence at a given station, suggests that such flies passed the winter in a dormant form, whether as pupae, larvae, or hibernating imagines. All individuals found in the first spring collections appeared young in eye color, body color, and condition of wings. An attempt has been made to estimate the time that a species was present at a station after emerging from the winter dormant state before it was trapped, by considering the size of early spring collections. After a winter absence of two or more months, a given species usually appeared first in the spring in minimal numbers (i.e., less than six per collection). In most cases a species was present for one or two generations before a sharp jump in collection figures from minimal numbers to around 20 individuals per collection occurred. At a station where a species first appeared in more than minimal numbers, the date of first appearance was always about one or two generation periods later than the appearance of the species at a station where it was first found in minimal numbers. It follows that such a species must have been present for a generation or more before being trapped.

The relation of temperature to spring awakening of the various species is shown in Table 10. The dates that the several species first appeared in the spring, the approximate length of a life cycle at a peak period, the number of days between first appearance and first day to exceed minimal numbers, and finally the range of mean daily temperatures of the week preceding the first spring appearance are given in Table 10. There is a fairly close agreement between the range of mean daily temperatures of the week preceding the first spring appearance of a given species at most of the stations. For example, Table 10 shows that *D. subobscura* first appeared on March 11, 1949, at Ain Anub, the temperature range of the preceding week being 42·7–48·8° F. At Sofar, this species was first found three weeks later when the range of mean daily temperatures of the preceding week reached 42·4–54·4° F. Table 10 shows that, in cases where there is a poor correlation between the mean daily temperature range of the week preceding the first spring

Table 10.—*Summary of appearance and first rise above minimal numbers following a winter absence of two or more months for various species.*

Species	Approximate length life cycle at peak season days	Station	Date species first trapped in spring	Date species first exceeded minimal numbers	Number of days between first appearance and first day to exceed minimal numbers	Range of mean daily temperatures of week preceding first appearance in degrees F.
D. subobscura .	35	Sofar	April 1, 1949	April 18, 1949	17	42·4–54·4
		Ain Anub	March 11, 1949	April 3, 1949	23	42·7–48·8
D. immigrans .	15	Sofar	May 3, 1949	May 7, 1949	4	59·9–65·8
		Chtaura	May 7 , 1949	May 17, 1949	10	61·1–66·7
		Ksara box	May 7, 1949	May 10, 1949	3	60·6–65·8
		Ksara garden	May 7, 1949	May 7, 1949	0	No records
		Ain Anub	April 8, 1949	May 5, 1949	27	45·7–55·0
D. busckii . . .	18	Sofar	May 7, 1949	May 13, 1949	6	59·4–67·7
		Chtaura	May 7, 1949	May 10, 1949	3	61·9–66·7
		Ksara box	May 10, 1949	May 17, 1949	7	60·6–75·9
		Ksara garden	May 7, 1949	May 17, 1949	10	No records
		Ain Anub	March 20, 1948	May 1, 1948	42	No records
		Ain Anub	March 25, 1949	May 10, 1949	46	50·8–70·1
D. funebris . .	18	Sofar	April 26, 1949	Never exceeded minimal numbers	—	36·7–60·0
		Chtaura	March 18, 1949	March 25, 1949	7	41·5–52·2 (3 day range)
		Ksara box*	March 25, 1949	May 17, 1949	53	43·3–56·1
		Ksara garden	April 1, 1949	May 31, 1949	60	No records
		Ain Anub	April 8, 1949	May 4, 1948	26	No records
		Asfouriye	March 18, 1949	Never exceeded minimal numbers	—	47·7–59·7
		Ain Anub	April 17, 1949	May 21, 1949	34	46·4–56·9
D. hydei . . .	21	Sofar	May 13, 1949	May 24, 1949	11	66·6–78·3
		Chtaura	May 10, 1949	May 17, 1949	7	63·1–75·7
		Ksara box	May 7, 1949	May 17, 1949	10	60·6–65·8
		Ksara garden	May 17, 1949	May 17, 1949	0	No records
		Ain Anub	March 25, 1948	May 1, 1948	37	No records
		Ain Anub	May 9, 1949	May 21, 1949	12	63·9–80·6
		Asfouriye	March 18, 1949	March 29, 1949	11	47·7–59·7
		Beirut	March 24, 1947	May 1, 1947	38	62·1–64·8
D. buzzatii . .	23	Sofar	May 24, 1949	May 31, 1949	7	61·1–66·3
		Ain Anub	April 8, 1948	May 19, 1948	41	No records
		Ain Anub	May 21, 1949	May 23, 1949	2	66·5–82·7
		Asfouriye	May 10, 1949	May 10, 1949	0	65·7–82·8
		Beirut	March 29, 1947	May 1, 1947	33	62·1–73·6
		Beirut	March 22, 1948	May 2, 1948	41	47·7–65·3
		Beirut	May 13, 1949	May 25, 1949	12	72·1–82·4

* Winter absence 50 days only

appearance of a given species at two different stations, there is likewise a wide difference in the number of days between the first appearance and the first rise above minimal numbers. According to Table 10, the species trapped at the lowest temperatures were *D. subobscura* and *D. funebris*, with ranges of the week preceding first spring appearance in general between 43° F and 55° F. *D. melanogaster* tested females also appeared at this temperature range at Sofar. Next, *D. immigrans* was found at mean temperatures ranging from 55–65° F. in general. *D. busckii* followed with the mean daily temperature range of the week before first spring appearance in general between 50° F and 70° F. Other species appeared as follows: *D. hydei*, with a temperature range of from 60–75° F.; *D. simulans*, with an estimated temperature range of from 55–60° F. (since females probably appear about 10 days earlier than males); and finally, *D. buzzatii*, with a temperature range of from 60–80° F.

J. Temperature and summer absence.

A close agreement exists between the highest mean monthly temperature at which a given species was found at any station and the mean temperature of the three-week period preceding the disappearance of the species at a station where summer absence took place. For example, the highest monthly mean for *D. busckii* at both Ksara and Ain Anub was 76·3° F. in August, 1948. The same species was found at a mean temperature of 76·8° F. for three weeks before its disappearance at Beirut on June 10, 1948; at 79·7° F. for three weeks before its disappearance at the same station on June 24, 1947. *D. immigrans* was found during August, 1948, at Ksara, with a mean monthly temperature of 76·3° F. The same species disappeared from Beirut during the summers of 1947 and 1948, the mean temperatures of the three weeks preceding disappearance being 79·3° F. and 79·9° F., respectively. Furthermore, *D. subobscura* was found at Sofar in August, 1948, with a mean monthly temperature of 73·7° F. This species became absent from Beirut in the springs of 1947, 1948, and 1949, with mean temperatures of the three weeks preceding absence, respectively, 68·7° F., 62·6° F., and 61·2° F. The mean temperature of the three weeks preceding disappearance of this species from Chtaura in the spring of 1949 was 60·4° F.

D. immigrans reappeared on December 19, 1947, and December 20, 1948, at Beirut. The range of mean daily temperatures of the week before appearance of this species at Beirut was 61·3–74·5° F in 1947 and 55·6–61·2° F. in 1948. *D. subobscura* reappeared at Beirut on February 2, 1948, and January 8, 1949. The temperature range of the week preceding the appearance of *D. subobscura* at Beirut in the winter of 1948 was 56·3–64·6° F.; 53·8–57·0° F. in the winter of 1949. *D. subobscura* reappeared at Asfouriye following a summer-fall absence on January 11, 1949, with the mean temperature range of the previous week, 50·2–53·1° F. The mean temperatures at which these species reappear following a warm weather absence are considerably lower than the maximum temperatures at which they may be found at certain stations. Their reappearance is probably dependent upon an increased food supply which is stimulated in growth by the lower temperatures and autumn rains.

V. Discussion and conclusions.

Seasonal fluctuations of *Drosophila* populations were found in general to be correlated with the climatic area. Stations relatively near one another with respect both to linear mileage and altitude showed the most similar seasonal changes. Such, for example, were Beirut and Asfouriye, on the one hand, and Chtaura and Ksara, on the other. Ain Anub, located in the upper part of the maritime climatic area supported the greatest variety of *Drosophila* species in more than minimal numbers at some time during the year. Sofar, in the temperate altitude area possessed almost as many species as Ain Anub in more than minimal numbers. Collections of *Drosophila* at other points in the maritime and temperate altitude areas showed the variety and relative numbers of *Drosophila* expected, considering the altitude and time of year the collection was made, according to data obtained from intensive collections at the six permanent stations.

Year to year variations in *Drosophila* populations were less striking in the Lebanon than in the tropical areas studied by DOBZHANSKY and PAVAN (1950). An explanation lies in the marked influence of climatic changes on the food supply in the Lebanon, whereas a wide variety of lush vegetation occurs in certain parts of tropical Brazil where a rather uniform climate prevails. The same general cycle existed for the parts of the three years studied at Beirut: Certain species bred in minimal numbers throughout the winter without expanding in the spring. Others developed spring population expansions but with varying degrees in the three spring seasons. The month of maximum expansion of a species differed in some cases during different spring seasons. Summer absences of several species occurred, the date of reappearance in the autumn or winter being often remarkably constant from year to year. The time of first spring appearance of *D. buzzatii*, the only species that undergoes a winter absence at Beirut, was very similar in 1947 and 1948 but somewhat retarded in the spring of 1949. The three spring seasons studied at Ain Anub were alike with respect to the large variety of species found, though the degree of expansion of the different species varied from year to year. *Drosophila* populations of the two winters studied at Ain Anub differed considerably since several species were present in more than minimal numbers during the winter of 1948 while two species only made brief appearances at this station in the colder winter of 1949.

The general sparseness of *Drosophila* populations in the Lebanon was owing in large measure to the adverse effect on the food supply of a lack of rainfall in most of the warm growing season. The precipitation of rain from approximately October to May was responsible for the single spring or early summer period of population expansion shown here by most *Drosophila* species. Only *D. melanogaster* and *D. simulans*, with short egg to egg life cycles, were able to develop autumnal population peaks at Sofar and in the Bekaa valley, using irrigated fruits as a source of food. In Austin, Texas, on the other hand, where rain falls intermittently throughout the year, PATTERSON (1943) found several species expanding more than once a year. *Drosophila* populations at all stations in the Lebanon were reduced sharply during the latter part of the summer because vegetation was at low ebb with several months drought at this time. Various species disappeared in the summer at Beirut, Asfouriye, Chtaura, and Ksara, only to reappear, sometimes briefly, in the fall or winter. Reappearance following summer dor-

mancy was apparently dependent upon increased food supplies owing to ripening of irrigated fruits at all stations and growth of winter vegetation at Beirut and Asfouriye because of the rainy season.

Temperature affects seasonal fluctuations of *Drosophila* populations by its effect on the ripening of fruit and growth of microflora, length of the egg to egg life cycle of the different species, spring awakening from the winter dormant state, and its influence in inducing winter dormancy. The ripening of fruit and growth of microflora on fruit is retarded in cooler zones. Hence a major cause for later development of population peaks at cooler stations is owing to the later development of a maximum food supply here. The lengthening of the egg to egg life cycle of a given *Drosophila* species by a lower temperature than that at which a minimum life cycle is passed also contributes to the later periods of maximum expansion at the cooler stations. The nine common Lebanese species showed rather characteristic mean temperatures at which they appeared following winter dormancy at the cooler collecting stations. One or two generations of a population of minimal numbers often followed the first spring appearance of a given species before the approach to a period of maximum expansion of population began. The date in the spring at which a species emerged from winter dormancy was an important factor in fixing the time of population peak at a given station.

Autumn cold shocks with mean temperatures dropping from ca. 64° F. to ca. 44° F. drastically reduced *Drosophila* populations in stations of 1289 ft. or higher in the Lebanon. On the other hand, early spring breeding populations of *D. subobscura* and *D. melanogaster* were found at the higher stations with mean temperatures in the low forties (degrees Fahrenheit). These facts are in accordance with the findings of Muller (1942), who states that *D. melanogaster* "when placed immediately at 4° C. (39·2° F.) were irreparably injured in their nervous systems, whereas flies of the same genetic type brought very gradually to this temperature survived it without apparent damage and were later able to breed." Early spring breeding populations of *D. melanogaster* and *D. subobscura* had been conditioned gradually to the cold and were thus able to withstand it, whereas autumn populations of the same species were largely killed out by sudden drops in temperature.

Winter dormancy of two months or more of a given *Drosophila* species is not necessarily dependent upon freezing night temperatures. Freezing or near freezing minimum temperatures reduce the food supply and thus keep populations at a pessimum. However, continuous mean temperatures of 50° F. suffice in regions of little diurnal variation in temperature to prevent flies from moving about in search of food and thus force them into a winter dormant state whether as imagines or as immature forms. The rather high daytime maximum temperatures in the Bekaa valley during the coldest winter months enabled *D. subobscura* and *D. funebris* to overwinter there with populations at a pessimum but actively moving about in the middle of the day. At the warmer stations of Beirut und Asfouriye, where mean temperatures well exceeded 50° F. in winter, one species, *D. buzzatii*, nevertheless underwent a fall and winter absence possibly owing to the lack of a specific foodstuff.

No direct evidence is available from the present author's work as to whether *Drosophilae* hibernate as imagines or overwinter in immature stages of development at the cooler stations. Patterson (1943) states that „During the cold

winter months, the population sinks to an extremely low level, although enough specimens must survive either as hibernating imagines or else as larvae or pupae to insure that the species will be able to carry through to the next regular breeding season." SPENCER (1940) is of the opinion that *D. hydei*, which builds up large populations in produce houses in cities, must overwinter as hibernating imagines within the shelter of buildings in the areas he studied. In the present study, some few imagines have been found unexpectedly during midwinter at stations where the species was thought to be in winter dormancy. These may have been temporarily awakened hibernants. On the other hand, at Sofar, the complete absence of all flies for four or five months followed by the spring appearance of young flies suggests that pupae were the overwintering forms here. Nevertheless, the possibility of cold resistant, dormant imagines is not ruled out even at Sofar.

The variation in time of maximum expansion of the different species at a single collecting station depends upon several factors: (1) the time of maturation of such vegetation as is especially suited for certain species; (2) the time of spring awakening in case winter dormancy has occurred; (3) the lenght of the life cycle of a given species. The latter factor is also important in limiting the degree of expansion of a species. For example, even the hardy *D. buzzatii*, with a life cycle of about 23 days, which appears relatively late in the spring following winter absence, meets with difficulty in developing a population peak before the food supply is exhausted by lack of rain. On the other hand, *D. immigrans*, *D. melanogaster*, and *D. simulans*, with relatively short life cycles, were able to make large population gains rapidly. All of the so-called "rare" species in the Lebanon possessed life cycle periods of 28 days or more.

No definite conclusions may be drawn concerning the effect of humidity changes on the size of *Drosophila* populations in the present study. It is probable that the low humidity and constant winds of the Bekaa valley contributed to the small size of populations of *Drosophila* found here except during the grape harvest. The high atmospheric humidity existing even throughout the rainless summer season in the maritime area may influence favorably specific foodstuffs of *D. buzzatii* so as to allow it to undergo population expansions at all stations in this area; i.e., Beirut, Asfouriye, and Ain Anub. This species occurs with very low frequency both in the temperate altitude area (Sofar) and in the continental area (Bekaa valley).

The author's observations on a slow decline of a species from its peak period, such as occurred in the case of *D. buzzatii* in the summer of 1948 at Ain Anub, indicate that adult flies do not live more than about a generation in their natural habitats during periods of expansion. The size of collection numbers from single catches during the decline of this species from its peak fall naturally into definite generation periods. These would have been obscured if adults normally lived more than about a generation (i.e., three weeks) at this time. DOBZHANSKY and EPLING (1944) likewise concluded from release experiments that the "average longevity of flies in nature is very much less than their longevity under laboratory conditions."

NEEL (1937) found that the penetrance of certain mutant characters in *D. funebris* increased with the rise in temperature. GORDON, SPURWAY, and STREET (1939) also reported that many mutants in *D. subobscura* were "strongly penetrant at 18° C., and very weakly so in bottles at 15° C." According to the

author's observations, the temperatures in nature at which populations of *D. subobscura* and *D. funebris* are expanding are those at which a mutant character, if established, would be less penetrant.

Summary.

1. Seasonal fluctuations in *Drosophila* populations were observed from May, 1948, through May, 1949, at six collecting stations located in and near the Lebanon Mountains: Beirut, Asfouriye, Ain Anub, Sofar, Chtaura, and Ksara. The collection region embraced three subtypes of mediterranean climate: maritime, temperate altitude, and continental. Systematic collecting prior to May, 1948, was also carried on for one and one half years at Beirut and a year at Ain Anub. Some collections were made in 1947 at points in the maritime and temperature altitude areas other than the permanent collecting stations.

2. Collections were made by netting four one-gallon trap cans placed close together and baited with peelings from oranges, lemons, bananas, tomatoes, and watermelons. The small size of the trap can enabled a study to be made of the population when present at a pessimum. Records were made of temperature, humidity, and rainfall during part of the study.

3. A study of seasonal fluctuations revealed that seven common species: namely, *D. subobscura*, *D. funebris*, *D. immigrans*, *D. hydei*, *D. buzzatii*, *D. busckii*, and *D. lebanonensis*, developed one period of population expansion per year. *D. melanogaster* increased its population to peak two times and *D. simulans* three times during a natural year of four seasons at certain stations. The single population expansion per year shown by most species was dependent upon rain from approximately October to May.

4. Ain Anub, located in the upper part of the maritime area supported all nine common species in more than minimal numbers at some time during the year. Sofar, in the temperate altitude area, and Chtaura and Ksara, in the continental area, possessed seven species expanding beyond minimal numbers at some time during the year. Six and five species, respectively, occurred in more than minimal numbers at Asfouriye and Beirut, the lowest stations in the maritime area. D. *buzzatii* was a common species in late spring and summer at all three stations in the maritime area, being rare at other stations throughout the year. *D. funebris* and *D. subobscura* were uncommon at Beirut and Asfouriye, but they developed fair-sized populations at higher stations. *D. hydei* never expanded during the three spring seasons studied at Beirut.

5. In the autumn at the four higher stations, sudden drops in mean temperatures from ca. 64° F. to ca. 44° F. caused catastrophic reductions of *Drosophila* populations. Most or all *Drosophilae* disappeared for two or more winter months at these stations. Winter dormancy of *Drosophilae* was thought to be induced by (1) a lessening of food supply owing to the onset of cool weather; (2) inability of flies to move about in search of food at mean temperatures of 50° F. or less in areas where little diurnal variation in temperature occurred. Freezing night temperatures were found not to be necessary to induce winter dormancy. In the continental climate area, where subfreezing minimum temperatures at night frequently occurred but where maximum daytime temperatures rose briefly to from 55° F. to

70° F., two species, *D. subobscura* and *D. funebris*, occurred throughout the winter in very low numbers. At the two lowest stations, Beirut and Asfouriye, where mean temperatures in winter exceeded 50° F., *D. buzzatii* nevertheless underwent a late fall and winter dormancy possibly owing to want of a specific foodstuff.

6. A given species reappeared following winter dormancy of two or more months earlier in the spring at a lower altitude station and later at a higher altitude station. For the same species, the first spring appearance occurred at rather similar mean temperatures at the various stations. This suggests that spring awakening from the winter dormant state is dependent upon temperature. Different species emerge from winter dormancy at characteristic mean temperature ranges.

7. Several species disappeared during the summer at Beirut, Asfouriye, Chtaura, and Ksara, whereas they where found at the same time in very low numbers at the cooler station of Sofar and in certain cases also at Ain Anub. These summer absent species reappeared at the former stations in the autumn or winter.

8. With few exceptions throughout the collection area, *D. simulans* was found to be superior to *D. melanogaster* in population numbers at a time of population expansion of one or both species, with mean temperatures ranging from 52·0° F. to 80·9° F. The frequency of *D. melanogaster* far exceeded that of *D. simulans* in four cases only, in the spring following winter dormancy of both species. It is believed that *D. melanogaster* enjoyed a temporary advantage at these stations because it emerged from winter dormancy earlier than *D. simulans*. In one instance, at Sofar, the highest station, during the autumn expansion of both *melanogaster* and *simulans*, the frequencies of the two species were approximately equal.

9. Year to year variations in *Drosophila* populations in the Lebanon were not striking. The degree of population expansion of a given species differed during the three spring periods studied at Beirut and at Ain Anub. At Ain Anub the winter population of 1948 included several species in more than minimal numbers, whereas during the colder winter of 1949 only six individual *Drosophilae* were observed in two and a half winter months.

Acknowledgments.

The author is indebted to the R. P. C. COMBIER, S. J., late Director of The Observatory of Ksara, Ksara, Lebanon, for testing meteorological instruments, loan of two instruments, supplying the author with meteorological data for Ksara, and for his generous advice. Thanks are also due Prof. R. W. SLOANE, Director of The Observatory, The American University of Beirut, for meteorological data recorded on the campus of the University and for suggestions. Thanks are given to the R. P. DUPRÉ DE LA TOUR, S. J., Director of the Faculté de Médecine de St. Joseph, Beirut, Lebanon, for assistance in securing three meteorological instruments. To the Reverend ALFRED NIELSEN and Dr. H. HAMDAN, M. D., the author is indebted for recording certain meteorological data at Ain Anub and Sofar, respectively. For assistance in locating collection boxes, the author thanks Dr. R. B. ROBERTSON, M. B. E., M. B.; Miss PHYLLIS SHEPHERD;

Miss Hosanna Tufankjian; and Mrs. Roger Soltau. For faithful collection for a year at Ain Anub, the author thanks Miss Hosanna Kalossian; for the collection at D'ahr el Betr Pass, thanks are due Mr. Ralph Pauly. The author thanks Dr. Alan C. Pipkin for designing the collection boxes and for making drawings. Appreciation is expressed to Dr. Wilson Stone of The University of Texas for reading the manuscript.

Literature cited.

Combier, R. P. C.: Aperçu sur les climats de la Syrie et du Liban. Delegation Générale de France au Levant. Beyrouth 1945.—Dobzhansky, Th.: Genetics and the Origin of Species. New York: Columbia University Press 1941.—Dobzhansky, Th., and C. Epling: Contributions to the genetics, taxonomy, and ecology of *Drosophila pseudoobscura* and its relatives. Carnegie Institution of Washington Publication 554, S. 1–46. Washinton, D. C. 1944.— Dobzhansky, Th., and C. Pavan: Local and seasonal variations in relative frequencies of species of *Drosophila* in Brazil. J. anim. Ecology **19**, 1 (1950).—Elton, C.: Animal Ecology. London: Sidgwick & Jackson 1927.—The Ecology of Animals. London: Methuen & Co. 1946. Gordon, C., H. Spurway and P. A. R. Street: An analysis of three wild populations of *D. subobscura*. J. Genet. **38**, 37 (1939).—Huxley, J. S.: Evolution: The Modern Synthesis. New York a. London: Harper & Brothers 1942.—Mayr, E.: Systematics and the Origin of Species. New York: Columbia University Press 1942.—Muller, H. J.: Isolating mechanisms, evolution, and temperature. Biol. Symposia **6**, 71 (1942).—Neel, J.: Phenotypic variability in mutant characters of *D. funebris*. J. of exper. Zool. **75**, 131 (1937).—Patterson, J. T.: The Drosophilidae of the Southwest. The University of Texas Publications 4313, S. 7–216. 1943.—Sloane, Robert W.: Monthly Bulletin of the Observatory of the American University of Beirut, Beirut, Lebanon. Beirut: American Press 1947, 1948, 1949.—Spencer, W. P.: Levels of divergence in *Drosophila* speciation. Amer. Naturalist **84**, 299 (1940).—Ecological factors and *Drosophila* speciation. Ohio J. Sci. **41**, 190 (1941).—Wheeler, M. R.: The subgenus *Pholardoris (Drosophila)* with descriptions of two new species. The University of Texas Publications 4920, S. 143–156. 1949.

Sarah B. Pipkin, 801 East 23 St. Austin, Texas, USA.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 84, S. 306—319 (1952).

Kerckhoff Laboratories of Biology, California Institute of Technology, Pasadena, California.

ÜBER TEMPERATURMUTANTEN BEI *ESCHERICHIA COLI* UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE „EIN GEN — EIN ENZYM"-HYPOTHESE*.

Von

URS LEUPOLD und N. H. HOROWITZ**.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Februar 1952.)

1. Einführung.

Als „biochemische Mutanten" sind in der Genetik der Mikroorganismen Mutanten bekannt, welche die Fähigkeit des Wildtyps verloren haben, gewisse lebenswichtige Verbindungen wie Vitamine, Aminosäuren und Nukleinsäurebausteine — sog. „Wachstumsfaktoren" — zu synthetisieren. Dieser Ausfall lebenswichtiger Synthesen äußert sich in der Unfähigkeit derartiger Mutanten, auf einem „minimalen" Medium zu wachsen. Es ist dies ein Medium, das nicht mehr Verbindungen enthält, als für ein normales Wachstum des Wildtyps eben notwendig sind. Das Wachstum solcher Verlustmutanten wird erst dann möglich, wenn die Wachstumsfaktoren, deren Synthese in den betreffenden Mutanten blockiert ist, dem minimalen Medium zugesetzt werden.

Die große Mehrzahl — mindestens 84% — der bis heute bekannten biochemischen Mutanten des Ascomyceten *Neurospora* läßt sich durch die Zugabe einer einzigen Verbindung zum Wachsen bringen. Die biochemische Analyse der Mutanten hat bereits in manchen Fällen erwiesen, daß die Wirkung der Mutation in der Blockierung eines einzigen Schrittes in der Reaktionskette besteht, welche zur Synthese des fraglichen Wachstumsfaktors führt. In einigen Fällen ist es möglich gewesen, diese Blockierung direkt auf das Fehlen des beteiligten Enzymes zurückzuführen. Hieraus wurde geschlossen, daß die einzige wesentliche Funktion des unmutierten Genes in all diesen Fällen in der Kontrolle des Enzymes bestanden hatte, welches die betroffene Reaktion katalysierte; eine Annahme, die sich unter dem Namen *„Ein Gen — Ein Enzym-Hypothese"* („one gene — one enzyme hypothesis") durchgesetzt hat.

DELBRUECK (vgl. die Diskussion nach BONNERs Vortrag am Cold Spring Harbor Symposium von 1946) hat aber den Einwand erhoben, daß das Auffinden einer Mehrzahl von Genen mit nur einer einzigen wesentlichen Funktion möglicherweise das *Kunstprodukt einer Selektion* darstellt, welche die Entdeckung von Mutationen unifunktioneller Gene begünstigt und der Entdeckung von Mutationen von Genen mit mehreren, voneinander unabhängigen Funktionen entgegenwirkt. Tatsächlich ist es aus einer Reihe von Gründen unmöglich, mit Hilfe der üblichen Methoden alle existierenden Verlustmutanten zu isolieren.

* Ausgeführt mit Unterstützung der American Cancer Society, auf Empfehlung des Committee on Growth of the National Research Counsil, USA., und mit Unterstützung der Rockefeller Stiftung.

** Unseren Mitarbeitern, Frau K. HAAS und Frau R. LEUPOLD, sei hier für ihre wertvolle Hilfe im experimentellen Teil der Arbeit besonders gedankt.

Eine wichtige Selektion findet auf dem sog. „kompletten" Medium statt, d. h. auf dem Standardmedium, das in der *Neurospora*-Forschung allgemein zur Isolierung biochemischer Mutanten verwendet wird. Es ist dies ein reichhaltiges Medium, dem Vitamine, Hefe- und Malzextrakt, hydrolysiertes Kasein und hydrolysierte Hefenukleinsäure zugesetzt worden sind. Jede Mutante, die nicht auf diesem Medium wachsen kann — sei es, daß der benötigte Wachstumsfaktor fehlt oder nicht aufgenommen werden kann, sei es, daß spezifische Inhibitoren des Mediums das Wachstum verhindern — ist dazu verurteilt, verlorenzugehen.

Im folgenden werden wir bei Mutanten, die unfähig sind, auf komplettem Medium zu wachsen, vom Verluste *„unentbehrlicher"* („indispensable") Genfunktionen sprechen. In Fällen von Mutanten hingegen, die sich auf komplettem Medium isolieren und kultivieren lassen, werden wir die verlorenen Genfunktionen als *„entbehrlich"* („dispensable") bezeichnen. Wenn entbehrliche und unentbehrliche Genfunktionen unter den Funktionen unifunktioneller und multifunktioneller Gene mehr oder weniger zufallsmäßig verteilt sind (und es bestehen vorläufig keine Gründe, nichtzufallsmäßige Verteilungen anzunehmen), dann wird für ein einzelnes Gen die Wahrscheinlichkeit, *mindestens eine* unentbehrliche Funktion zu kontrollieren, um so größer, je mehr Funktionen es ausübt. Dies hat zur Folge, daß die Selektion auf dem kompletten Medium die Entdeckung unifunktioneller Gene auf Kosten der Entdeckung multifunktioneller Gene begünstigt. Falls unentbehrliche Genfunktionen häufig sind, dann ist eine beträchtliche Verschiebung des bestehenden Zahlenverhältnisses zugunsten unifunktioneller Gene zu erwarten. Sind unentbehrliche Genfunktionen dagegen selten, dann wird die Isolierung auf dem kompletten Medium ein nur wenig verändertes Bild der tatsächlichen Situation liefern.

Die *Bestimmung der relativen Häufigkeit unentbehrlicher Funktionen* ist deshalb für die „Ein Gen — Ein Enzym"-Idee von ausschlaggebender Bedeutung. Als Grundlage für eine derartige Bestimmung sind die sog. *„Temperaturmutanten"* vorgeschlagen worden (Horowitz 1948, 1950). Unter diesem Namen ist eine Klasse biochemischer Mutanten bekannt, deren mutativer Phänotyp nur innerhalb eines bestimmten Temperaturbereiches ausgeprägt ist. Im allgemeinen benötigen solche Mutanten für ein normales Wachstum die Zugabe bestimmter Wachstumsfaktoren zum minimalen Medium, wenn sie bei 35—40° C gehalten werden; bei 25° C hingegen können sie wie der Wildtyp auf minimalem Medium gezogen werden. Bei niederen Temperaturen lassen sie sich demnach ohne Rücksicht auf die „Entbehrlichkeit" oder „Unentbehrlichkeit" der betroffenen Genfunktionen auf minimalem Medium isolieren. Damit wird die Isolierung auch solcher Mutanten möglich, die bei höheren Temperaturen selbst auf komplettem Medium nicht wachsen können und demnach im üblichen Isolierungsverfahren verlorengingen, und ihre relative Häufigkeit mag als Grundlage für eine Schätzung der selektiven Wirkung dieses Mediums dienen. Eine derartige Bestimmung der relativen Häufigkeit von Mutationen, die zu „irreparablen" (nicht durch das komplette Medium reparierbaren) Verlusten führen, ermöglicht es uns, die gesuchte relative Häufigkeit der unentbehrlichen Genfunktionen abzuschätzen. Da wir die Möglichkeit von Mutationen multifunktioneller Gene berücksichtigen müssen (deren jede zu einem „irreparablen" Verluste führt, sobald mindestens eine der verschiedenen Funktionen des betroffenen Genes unentbehrlich ist)

liefert uns diese Methode eine Schätzung der *maximalen* Häufigkeit unentbehrlicher Funktionen.

Nachdem wir so einen Weg gefunden haben, die relative Häufigkeit der unentbehrlichen Genfunktionen für die Gruppe der Temperaturmutanten abzuschätzen, bleibt uns noch zu entscheiden, ob wir die Temperaturmutanten in dieser Hinsicht als eine zufallsmäßige Stichprobe aus der Gesamtheit der biochemischen Mutanten betrachten dürfen. Dies scheint uns aus folgenden Gründen erlaubt: Erstens sind die beiden Klassen von Genfunktionen keineswegs natürliche Kategorien, indem es von der Zusammensetzung des verwendeten „kompletten" Mediums abhängt, ob die ursprüngliche Rolle eines mutierten Genes als „entbehrlich" oder „unentbehrlich" zu klassifizieren ist. Und zweitens läßt die große Mannigfaltigkeit der (an der Mutantentemperatur) benötigten Wachstumsfaktoren unter den Temperaturmutanten vermuten, daß Mutation zu temperaturempfindlichen Allelen mehr oder weniger zufallsmäßig unter denselben Genen auftritt, welche auf Grund des Studiums temperaturunempfindlicher biochemischer Mutanten bereits bekannt sind (HOROWITZ 1950, HOROWITZ und LEUPOLD, im Druck).

Bei *Neurospora* haben sich unter den 26 bekannten Temperaturmutanten 12 als unfähig erwiesen, an der Mutantentemperatur auf komplettem Medium zu wachsen (HOROWITZ 1948, 1950). Hieraus ergibt sich für die relative Häufigkeit der unentbehrlichen Funktionen ein Maximalwert von 0,46. In Anbetracht der geringen Versuchszahl von 26 Mutanten ist dieser Wert aber recht unsicher, und der tatsächliche Wert kann mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% innerhalb der Grenzen von 0,29 und 0,64 erwartet werden.

Mit Hilfe der Information, daß die Häufigkeit der unentbehrlichen Funktionen rund 50% aller Genfunktionen beträgt, wird es möglich, die *Intensität der Selektion abzuschätzen, welche der Entdeckung multifunktioneller Gene entgegenwirkt.* Bei einer zufallsmäßigen Verteilung der Genfunktionen unter den Funktionen unifunktioneller und multifunktioneller Gene ist zu erwarten, daß jeweilen nur $(0{,}5)^n$ aller Gene mit n Funktionen im üblichen Isolierungsprozeß entdeckt werden können. Während sich die Hälfte aller Mutationen unifunktioneller Gene auf dem kompletten Medium isolieren läßt, wird die Ausbeute im Falle von Mutationen bifunktioneller Gene auf $(0{,}5)^2$ oder ein Viertel herabsinken, da nur die Mutationen derjenigen Gene der Isolierung zugänglich sind, deren *beide* Funktionen entbehrlich sind. Die Ausbeute an Mutationen von Genen mit mehr als 2 Funktionen wird entsprechend noch kleiner.

Die experimentell ermittelte Häufigkeit unifunktioneller Gene muß demnach zu hoch ausfallen und ist dementsprechend zu korrigieren. Für *Neurospora* beträgt die beobachtete Häufigkeit unifunktioneller Gene im Minimum 84%, falls die unwahrscheinliche Annahme gemacht wird, daß die übrigen 16% der isolierten Mutanten ausschließlich Fälle von Mutationen multifunktioneller Gene darstellen. Tatsächlich handelt es sich durchwegs um noch nicht genügend untersuchte Mutanten, die sich bei genauerem Zusehen sehr wohl dem „Ein Gen — Ein Enzym"-Schema einfügen mögen. Die Korrektur, die der Selektion zugunsten unifunktioneller Gene Rechnung trägt, führt zu einer tatsächlichen minimalen Häufigkeit von 71% unifunktioneller Gene (HOROWITZ 1950, HOROWITZ und LEUPOLD, im Druck). Dies bedeutet, daß wir infolge einer nur geringen

Intensität der Selektion auf dem kompletten Medium den experimentell ermittelten Minimalwert von 84% unifunktioneller Gene nur wenig revidieren müssen. Selbst wenn wir unsere Berechnungen (durch die höchst wahrscheinlich unkorrekte Annahme von 16% multifunktioneller Gene) möglichst zuungunsten der „Ein Gen — Ein Enzym"-Hypothese beeinflussen, kommen wir nach wie vor zum Schluß, daß *zum mindesten der Großteil der Gene von Neurospora*, welche lebenswichtige biosynthetische Reaktionen kontrollieren, nur *eine Funktion* im Organismus besitzt.

Um aber eine genauere Schätzung der Häufigkeit unentbehrlicher Funktionen zu erhalten, schien es wünschenswert, diese Berechnungen auf ein größeres Material zu basieren, als bisher bei *Neurospora* zur Verfügung gestanden hatte. Wir wandten uns deshalb dem Bakterium *Escherichia coli* zu, in der Hoffnung, mit Hilfe einer modifizierten Davis-Lederberg-Technik Temperaturmutanten in größerer Anzahl zu isolieren.

2. Material und Methoden.

Der Organismus, *Escherichia coli* Stamm K 12, wurde uns in freundlicher Weise von Dr. E. L. Tatum zur Verfügung gestellt. Als Minimalmedium wurde B. D. Davis' „Medium A" verwendet, ein Medium folgender Zusammensetzung: K_2HPO_4: 7.0 g. KH_2PO_4: 3.0 g. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.1 g. Na_3citrat $\cdot 5H_2O$: 0,5 g. $(NH_4)_2SO_4$: 1,0 g. Glucose (separat autoklaviert): 2,0 g. Aqua dest.: 1000 ml. Dasselbe Medium, mit Ausnahme der Auslassung des $(NH_4)_2SO_4$, diente zum Ansetzen von Zellsuspensionen und Verdünnungsreihen. Das komplette Medium bestand aus Medium A, angereichert durch Hefeextrakt, Malzextrakt, Vitaminlösung, hydrolysiertes Kasein und hydrolysierte Hefenukleinsäure, d. h. durch dieselben Zusätze, wie sie im kompletten Standardmedium der *Neurospora*-Forschung verwendet werden (Beadle und Tatum 1945), wobei auch die Konzentrationen der Zusätze übereinstimmend gewählt wurden. Als Agar diente im allgemeinen ungewaschener Difco-Bacto-Agar in einer Konzentration von 1,5%. Einzig in der letzten Serie von Wachstumsexperimenten, die der Bestimmung des Wachstums der gewonnenen Temperaturmutanten auf minimalem Medium bei 25° C und 40° C dienten, wurde gewaschener Agar verwendet. Hierzu wurde der Agar in verdünntem Natriumhypochlorit, Leitungswasser, destilliertem Wasser und Azeton gewaschen und dem minimalen Medium in einer Konzentration von 2,0% beigegeben. Bestrahlungen zur Auslösung von Mutationen wurden mit einer „Americanaire" Ultraviolettlampe (American Sterilizer Co.) ausgeführt, bei einer Distanz von 7,5 cm zwischen Lampe und zu bestrahlendem Material.

Von einer *Selektionsmethode* für die Isolierung von Temperaturmutanten mußte folgendes gefordert werden: 1. Hohe Leistungsfähigkeit in der Isolierung seltener biochemischer Mutanten. 2. Fehlen jeglicher selektiver Faktoren, welche das bestehende Zahlenverhältnis zwischen den Mutanten des entbehrlichen und des unentbehrlichen Funktionstyps zu verschieben vermöchten.

In bezug auf die Leistungsfähigkeit in der Isolierung seltener biochemischer Mutanten versprach die von B. D. Davis (1948) und von Lederberg und Zinder (1948) entwickelte *Penicillinmethode* die besten Resultate. Diese Methode beruht auf der Tatsache, daß Penicillin lediglich wachsende Bakterien inaktiviert und

ruhende Zellen unberührt läßt. In minimalem Medium angewandt, wird Penicillin deshalb nur die wachsenden Wildtypzellen inaktivieren, während gleichzeitig vorhandene, biochemische Mutanten die Behandlung überleben. In dieser Weise wird es möglich, die Ausbeute an biochemischen Mutanten in einer bestrahlten Zellsuspension von bestenfalls 1—2% bis gegen 100% der Überlebenden zu steigern. Indessen verlangt diese Methode vor der Anwendung des Penicillins die Vorkultivierung der bestrahlten Organismen in einem angereicherten Medium, damit biochemische Mutanten die Gelegenheit erhalten, die noch vorhandenen, vormutativen Genprodukte der mutierten Gene aufzubrauchen und sich damit phänotypisch auf den veränderten Genotyp einzustellen. In der Anwendung auf die Isolierung von Temperaturmutanten müßte diese Vorkultur in angereichertem Medium zur sofortigen Verschiebung der Verteilung der Temperaturmutanten zugunsten der Mutanten des entbehrlichen Funktionstyps führen. Es wurden deshalb Versuche angestellt, das angereicherte Medium in der Vorkultur durch minimales Medium zu ersetzen. Dabei wurde von der Annahme ausgegangen, daß dieses Medium ein zwar begrenztes, aber eben genügendes Wachstum frisch mutierter Zellen erlaube, um den Verbrauch der vormutativen Genprodukte herbeizuführen. Wenn diese Vorkultur auch das Zahlenverhältnis zwischen Wildtypzellen und Mutantenzellen zuungunsten der letzteren verschieben mußte, so durfte doch erwartet werden, daß die Verteilung der beiden interessierenden Temperaturmutantenklassen unverändert bliebe. Tatsächlich war es leicht möglich, durch UV-Bestrahlung einer Zellsuspension, Vorkultur in Minimalmedium, Behandlung mit Penicillin in minimalem Medium und Ausstreichen auf komplettem Agar, biochemische Mutanten des allgemeinen Typs zu isolieren. Temperaturmutanten hingegen wurden mit dieser Methode (unter Anwendung von 35° C während Vorkultur und Penicillinbehandlung, Ausstreichen der behandelten Organismen auf Minimalagar und Kultur bei 25° C) nicht erhalten: Alle Überlebenden erwiesen sich als dem Wildtyp angehörig.

Mittlerweile hatten Versuche mit einer *zweiten Methode* zu positiven Resultaten geführt. Diese Methode war wohl bedeutend weniger leistungsfähig in der Isolierung seltener Mutanten, versprach aber andererseits, nicht so viele unkontrollierbare selektive Variablen in die Experimente einzuführen wie die Penicillinmethode. Das Vorgehen, einschließlich der Klassifizierung der gewonnenen Mutanten, ist folgendes:

a) 10 ml einer 24stündigen, gelüfteten Kultur in Minimalmedium (bei 35° C kultiviert) werden in einer Schale von 10 cm Durchmesser während 40 sec mit UV bestrahlt. Während der Bestrahlung wird die Zellsuspension durch leichtes Schütteln in ständiger Bewegung gehalten.

b) Der Hauptanteil der bestrahlten Zellsuspension wird für 2 Tage in den Kühlschrank übertragen.

c) Während dieser Zeit wird eine Serie von Petrischalen von 150 mm Durchmesser, die mit Minimalagar ausgegossen und mit je 0,1 ml geeigneter Verdünnungen der bestrahlten Zellsuspension ausgestrichen worden sind, bei 35° C gehalten. Gleichzeitig wird eine Kontrollserie von Minimalagarschalen, die mit je 0,1 ml geeigneter Verdünnungen der unbestrahlten Zellsuspension ausgestrichen wurden, für 2 Tage in 35° C übertragen. Nach 2 Tagen wird durch Vergleich der Koloniezahlen je Milliliter ausgestrichener Zellsuspension der Prozentsatz der Inaktivierung durch die Bestrahlung bestimmt. Es wurde gefunden, daß eine Bestrahlung von 40 sec unter den genannten Bedingungen 99,7—99,9% der Zellen inaktiviert. Auf Grund desselben Experimentes wird eine optimale Verdünnung der bestrahlten Zellsuspension

berechnet, so daß auf jede 150-mm-Schale des Hauptexperimentes einige Hundert Kolonien kommen werden.

d) Der Hauptanteil der bestrahlten Zellsuspension, der seit 2 Tagen im Kühlschrank gehalten worden ist, wird bis zum vorher bestimmten Optimum verdünnt. Hiervon werden je Experiment bis zu 300 Minimalagarschalen (Durchmesser 150 mm — am vorhergehenden Tage mit je etwa 50 ml Agar ausgegossen) mit je 0,1 ml ausgestrichen. Die Schalen werden für 2 Tage in 40° C übertragen. Während dieser Zeit werden die Wildtypzellen, welche nicht durch die Bestrahlung inaktiviert worden sind, sichtbare Kolonien bilden.

e) Jede Kolonie, die sich während den 2 Tagen gebildet hat, wird durch direkte Kopie jeder Schale auf kontrastreiches photographisches Papier wie „Kodagraph-Contact-Standard" registriert.

f) Danach werden die Schalen für weitere 5 Tage in 25° C übertragen. Während dieser Periode erhalten Temperaturmutanten, welche nicht bei 40° C, wohl aber bei 25° C auf minimalem Medium wachsen können, die Gelegenheit, sich zu vermehren und sichtbare Kolonien zu bilden.

g) Nach 5 Tagen werden derartige „Sekundärkolonien" durch den Vergleich jeder Schale mit der entsprechenden Photokopie lokalisiert, indem nach Kolonien gesucht wird, welche auf der Photokopie nicht registriert sind. Die Sucharbeit wird teilweise dadurch erleichtert, daß sich Sekundärkolonien oft durch ihre Kleinheit zu erkennen geben. Größere Sekundärkolonien lassen sich dadurch lokalisieren, daß man die Photokopie auf eine Glasplatte legt, die entsprechende Schale in übereinstimmender Position darauf stellt, und die Kombination von oben mit gelbem und von unten mit blauem Licht beleuchtet. Dies hat zur Folge, daß die (auf der Kopie als weiße Flecken registrierten) Primärkolonien von genügend durchfallendem, blauem Lichte getroffen werden, um in der Aufsicht als weißlich zu erscheinen, während die (auf der Kopie nicht registrierten) Sekundärkolonien infolge des dunklen Hintergrundes nur auffallendes Licht erhalten und deshalb eine gelbliche Tönung aufweisen.

h) Etwas Zellmaterial einer jeden Sekundärkolonie wird in je 0,5 ml Verdünnungsmedium suspendiert. Von der Suspension eines jeden Stammes werden (unter Verwendung einer Platinschlinge voll je Kultur) 2 Strichkulturen auf Minimalagar angesetzt, wovon die eine in 25° C, die andere in 40° C übertragen wird. Um Material und Zeit zu sparen, werden die Kulturen in 100-mm-Petrischalen angesetzt, wobei je Schale 8 Stämme in ebenso vielen Sektoren nebeneinander ausgestrichen werden.

i) Während den folgenden Tagen wird das Wachstum an den beiden Temperaturen verglichen. Jeder Stamm, der im Verdacht steht, ein Temperaturmutant zu sein, wird abgeimpft und durch gründliches Ausstreichen in einer Minimalagarschale, Kultur bei 25° C und erneute Isolierung einer Einzelkolonie gereinigt.

k) Die gereinigten Stämme werden in derselben Weise wie im ersten Wachstumstest erneut ausgestrichen, diesmal je auf 2 Minimalagar- und 2 Komplettagarschalen. Eine Schale eines jeden Schalenpaares wird in 25° C, die andere in 40° C übertragen. Auf einer parallelen Komplettagarschale wird jeder Stamm gegen 2 Bakteriophagen der T-Serie (T5 und T6) ausgestrichen und bei 25° C kultiviert, um allfällig mitisolierte fremde Organismen auszuschließen. Dieser Test scheidet jeden Organismus, der nicht *E. coli* angehört, und darüber hinaus den Großteil fremder *E. coli*-Stämme aus, welche die Schalen infiziert haben mögen, indem sich solche Organismen durch ihre Resistenz gegen die beiden Phagen von *E. coli* K 12 unterscheiden lassen. Die Resultate dieses Tests wurden später in Experimenten von Dr. M. Lieb (Pasadena) bestätigt, welche zeigten, daß die meisten der von uns isolierten Temperaturmutanten noch stets den Bakteriophagen λ trugen, der vor kurzem entdeckt wurde und der ein höchst spezifisches Attribut von K 12 darstellt (vgl. S. 315). — Jeder Stamm, der sich in diesem Wachstumstest als echte Temperaturmutante von *E. coli* K 12 erweist, indem er wohl bei 25° C, aber nicht mehr bei 40° C auf minimalem Medium wachsen kann, wird auf Grund seiner Fähigkeit klassifiziert, bei 40° C auf komplettem Medium zu wachsen. Die hierzu fähigen Mutanten gehören der entbehrlichen Klasse, die dazu unfähigen der unentbehrlichen Klasse an.

l) In den beiden ersten Wachstumstests sind je 8 Stämme je Schale nebeneinander ausgestrichen worden, was sich in der ersten großen Aussiebung von Hunderten von Sekundärstämmen zeit- und materialsparend ausgewirkt hat. Als Folge der Möglichkeit gegenseitiger

Versorgung benachbarter Stämme mit Wachstumsfaktoren (sog. „Syntrophie" oder „cross-feeding") mag dies aber bisweilen auch zu Fehlern in der Klassifizierung der Stämme führen, da eventuell Stämme als wachsend registriert werden, die unter den betreffenden Bedingungen in separater Kultur nicht wachsen würden. Eine zweite Fehlerquelle liegt im Ausstreichen relativ konzentrierter Zellsuspensionen auf kleinem Raume, indem dichtes Wachstum innerhalb der Strichkultur eines Stammes in einzelnen Fällen das Resultat häufiger Reversionen zum Wildtyp innerhalb einer Population nicht-wachsender Mutantenzellen sein kann. Um diese Fehlermöglichkeiten in der endgültigen Klassifikation der Mutanten auszuschalten, werden die im zweiten Test als Temperaturmutanten bestimmten Stämme einem dritten Wachstumsteste unterworfen, wobei diesmal jede Mutante auf einem separaten Satz von 2 Minimal- und 2 Komplettagarschalen ausgestrichen wird und jede Schale nur etwa 10^3 Zellen erhält. Damit ist syntrophisches Wachstum der Mutanten ausgeschlossen, und das Wachstum gelegentlicher Reversionen läßt sich leicht vom Wachstum ganzer Populationen unterscheiden.

m) Endlich werden, soweit möglich, die bei 40° C benötigten Wachstumsfaktoren für jeden der gefundenen Temperaturmutanten bestimmt. Diese Bestimmung wird mit Hilfe der auxanographischen Technik vorgenommen, die darin besteht, etwa 10^5 Zellen einer zu untersuchenden Mutante in geschmolzenem Minimalagar von 45° C in einer Petrischale zu suspendieren und nach der Erstarrung des Agars auf dessen Oberfläche Tröpfchen von Lösungen der in Frage kommenden Wachstumsfaktoren anzubringen. Die Schalen werden in 40° C übertragen, worauf sich die Stämme auf Grund ihrer Wachstumsreaktionen (als lokale Trübungen des Agars im Umkreise von einzelnen der Tröpfchen erkennbar) klassifizieren lassen. In einer ersten Versuchsserie werden Mischungen von Wachstumsfaktoren verwendet (Mischungen A, B, C: Aminosäuren; Mischung D: Vitamine; Mischung E: alkali-hydrolysierte Hefenukleinsäure). In einer zweiten Versuchsserie werden die Einzelsubstanzen derjenigen Mischungen geprüft, welche im ersten Teste Wachstumsreaktionen ausgelöst haben. In Fällen unklarer Ergebnisse werden die Versuche wiederholt, wobei frisch isolierte Einzelzellkulturen der fraglichen Stämme zur Verwendung kommen.

3. Resultate.

In 10 Experimenten wurden total etwa $1{,}7 \cdot 10^9$ Zellen der UV-Bestrahlung unterworfen. Etwa $2{,}4 \cdot 10^6$ Zellen blieben aktiv, bildeten Kolonien auf Minimalagar und wurden auf Sekundärkolonien hin durchgesehen, welche erst nach der Übertragung der Schalen von 40° C nach 25° C erschienen. Von 2157 isolierten Sekundärstämmen erwiesen sich *161 Stämme als tatsächliche Temperaturmutanten*, die die Fähigkeit des Wildtyps verloren hatten, bei 40° C auf minimalem Agar zu wachsen. Reversionen zum Wildtyp wurden in manchen Stämmen beobachtet. Bei 25° C entsprach das Wachstum auf minimalem Medium bei den meisten Stämmen mehr oder weniger dem des Wildtyps; in 10 Stämmen war es deutlich reduziert.

37 der 161 Temperaturmutanten erwiesen sich als unfähig, ihre Wachstumsbedürfnisse bei 40° C auf dem kompletten Medium der *Neurospora*-Forschung zu befriedigen. Bei 25° C hingegen war das Wachstum dieser Mutanten auf dem kompletten Medium in der Mehrzahl der Fälle mehr oder weniger normal; 3 der 37 Stämme zeigten unter denselben Bedingungen deutlich reduziertes Wachstum und 4 Stämme wuchsen auf dem kompletten Medium auch bei 25° C nicht.

Die Wachstumsbedürfnisse der übrigen 124 Temperaturmutanten ließen sich durch das komplette *Neurospora*-Medium befriedigen. Das Wachstum auf diesem Medium war bei 40° C in den meisten der Stämme, bei 25° C in allen Stämmen mehr oder weniger normal. In 9 Mutanten erschien das Wachstum auf komplettem Medium bei 40° C deutlich reduziert, wenn auch noch möglich.

Tabelle 1. *Versuchsbedingungen und Ergebnisse der einzelnen Experimente.*

Nummer des Experimentes	UV-Bestrahlung sec	Inaktivierungsprozentsatz	Anzahl der Schalen	Durchschnittliche Anzahl von Kolonien je Schale	Anzahl von Sekundärkolonien	Anzahl von Temperaturmutanten, entbehrliche Klasse	Anzahl von Temperaturmutanten, unentbehrliche Klasse	Anzahl von Temperaturmutanten, total
1	30	76,58	300	1695	94	6	0	6
2	40	99,92	300	1567	102	5	2	7
3	40	99,84	300	1210	185	6	4	10
4	40	99,87	300	1443	312	11	4	15
5	40	99,73	100	566	148	6	8	14
5a	40	99,73	50	106	17	3	0	3
6	40	99,89	100	1737	124	9	0	9
7	40	99,90	300	993	409	11	4	15
8	40	99,72	300	429	265	16	4	20
9	40	99,85	300	140	273	28	9	37
10	40	99,87	300	579	228	23	2	25

Tabelle 2. *Liste der in den Temperaturmutanten von E. coli betroffenen Synthesen.*

Aminosäuren	Valin	Pyridoxin
	Threonin	Nikotinamid
Methionin	Aminobutyrat	Pantothensäure
Cystin	Tyrosin	
Arginin	Glycin	*Nukleinsäurebausteine*
Lysin		Hypoxanthin
Histidin	*Vitamine*	Adenin
Leucin	Biotin	Xanthin
Isoleucin	Thiamin	Guanin

Es sind demnach 37 der 161 Temperaturmutanten oder *23% aller Mutanten in bezug auf das Wachstum auf dem kompletten Medium der Neurospora-Forschung der unentbehrlichen Klasse zuzurechnen.*

Die Versuchsbedingungen und Ergebnisse der einzelnen Experimente sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Tabelle 2 gibt eine Liste der Aminosäuren, Vitamine und Nukleinsäurebausteine, die von den verschiedenen Temperaturmutanten für ein normales Wachstum bei 40° benötigt wurden. 79% der Mutanten der entbehrlichen Klasse und 14% der Mutanten der unentbehrlichen Klasse ließen sich mit Hilfe der auxanographischen Methode klassifizieren. Die übrigen Mutanten zeigten im ersten auxanographischen Teste keine Wachstumsreaktion und wurden nicht weiter untersucht. Es wurden sowohl Bedürfnisse für Einzelverbindungen, wie auch Bedürfnisse für mehrere Verbindungen registriert. Im letzteren Falle konnten sich die verschiedenen Wachstumsfaktoren in ihrer wachstumsermöglichenden Wirkung entweder gegenseitig vertreten (sog. „alternative" Bedürfnisse), oder aber sie wurden kombiniert benötigt (sog. „multiple" Bedürfnisse).

Indessen erlauben die gewonnenen Ergebnisse nur eine vorläufige Klassifizierung der Mutanten, da die beobachteten Wachstumsreaktionen der auxanographischen Versuche wohl nicht in allen Fällen eigentliche Wachstumsbedürfnisse der entsprechenden Mutanten widerspiegeln. Sie mögen bisweilen die Folge einer Verlängerung der Periode residualen Wachstums sein, das einem Temperaturmutanten nach dem Temperaturwechsel von 25° C nach 40° C für eine beschränkte Zeit noch möglich ist. Eine leichte Ausdehnung dieser begrenzten Wachstumsperiode als Folge der Anwesenheit eines bestimmten Wachstumsfaktors wird die

Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Reversionen zum Wildtyp erhöhen, und es mag schwierig sein, das resultierende Wachstum der Reversionen in den dicht mit Zellen beschickten Schalen von echtem Wachstum der ganzen Population zu unterscheiden. So fand Dr. P. Schaeffer (Pasadena, unpubliziert) bei einer unserer Mutanten, die im auxanographischen Teste alternativ sowohl auf Thiamin wie auch auf Methionin reagiert hatte, daß nur Thiamin ein tatsächliches Bedürfnis befriedigte, während Methionin einzig die Periode des residualen Wachstums etwas verlängerte, mit dem Resultat, daß manche Reversionen zum Wildtyp auftraten. Auf der anderen Seite ließ sich im Falle zweier ähnlicher, von Dr. Schaeffer untersuchten Temperaturmutanten zeigen, daß eigentümliche, alternative Reaktionen auf Pantothensäure, Thiamin und Methionin tatsächlichen Bedürfnissen für diese Verbindungen entsprachen. Ähnliche Studien werden für jede unserer Temperaturmutanten angezeigt sein, bevor eine endgültige Klassifizierung vorgenommen wird.

Trotzdem darf aus den Resultaten geschlossen werden, daß *Temperaturmutationen mehr oder weniger zufallsmäßig die verschiedenartigsten, lebenswichtigen Synthesen betreffen können.* Einige Wachstumsfaktoren fallen allerdings durch ihr Fehlen in der Liste auf, speziell Tryptophan und p-Aminobenzoesäure. Es ist indessen nicht völlig ausgeschlossen, daß Bedürfnisse für diese Verbindungen unter den Mutanten vorkommen, die in den auxanographischen Versuchen nicht klassifiziert werden konnten.

Was das ursprüngliche Problem der Bestimmung der selektiven Wirkung des kompletten *Neurospora*-Mediums auf die Isolierung biochemischer Mutanten betrifft, so lassen sich die gewonnenen Resultate folgendermaßen zusammenfassen: Die Anwendung der Temperaturmutantenmethode auf *E. coli* hat für die relative Häufigkeit der unentbehrlichen Funktionen auf einen noch kleineren Wert geführt, als die Anwendung der Methode auf die beschränkte Anzahl der bekannten Temperaturmutanten bei *Neurospora* geliefert hatte. Auf der Grundlage des Ergebnisses, daß nur rund ein Viertel aller Genfunktionen unentbehrlich sind, berechnet sich die korrigierte, minimale Häufigkeit der unifunktionellen Gene bei *Neurospora* zu 79%, im Gegensatz zum experimentell ermittelten, minimalen Werte von 84% (vgl. S. 308). *Die Intensität der Selektion, welche im üblichen Isolierungsverfahren der Entdeckung multifunktioneller Gene entgegenarbeitet, ist demnach recht gering und deshalb nicht imstande, die Tatsache zu erklären, daß die mit Hilfe dieser Methoden entdeckten Gene zum mindesten in der großen Mehrzahl dem unifunktionellen Typ angehören.*

Damit haben die umfangreichen Versuche an *E. coli* im wesentlichen zum selben Ergebnisse geführt, wie die Anwendung der Temperaturmutantenmethode auf *Neurospora*.

4. Diskussion.

Für eine allgemeine Diskussion der Resultate wird der Leser auf die früheren Publikationen hingewiesen (Horowitz 1950, Horowitz und Leupold, im Druck). Im folgenden soll die Möglichkeit *selektiver Faktoren* diskutiert werden, die im Laufe der Isolierung der Temperaturmutanten das bestehende Zahlenverhältnis zwischen der entbehrlichen und der unentbehrlichen Klasse verschieben könnten.

Es ist kürzlich entdeckt worden, daß der *Stamm K 12 von E. coli lysogen* ist (E. M. Lederberg, 1951), d. h. einen Bakteriophagen, genannt λ, trägt, der

durch eine kleine Dosis von ultraviolettem Licht aktiviert werden kann (Lwoff-Effekt). Eine Dosis, die 99,8% eines normalen, bakteriophagentragenden K 12-Stammes inaktiviert, hat in Versuchen von Weigle und Delbrueck (1951) nur 50% eines phagenfreien Stammes von K 12 inaktiviert. Der Inaktivierungsprozentsatz für den normalen K 12-Stamm in diesen Experimenten ist derselbe wie in den meisten unserer eigenen Experimente. Wenn auch in Weigles und Delbrucks Versuchen eine andere UV-Lampe und jüngere Kulturen zur Bestrahlung verwendet wurden, und wenn auch der Inaktivierungsprozentsatz auf angereichertem Medium bestimmt wurde, so mag doch die Dosis von 40 sec, die in den meisten unserer Experimente zur Anwendung kam, von derselben Größenordnung gewesen sein. Dies würde bedeuten, daß die inaktivierende Wirkung der UV-Bestrahlung großenteils auf die Auslösung der Phagenproduktion mit nachfolgender Zerstörung der Zellen durch den aktivierten Phagen zurückzuführen wäre, daß also die mutagene Wirkung dieser Dosis möglicherweise nur klein gewesen ist.

Es ist denkbar, daß in unseren Bestrahlungsexperimenten eine Selektion zugunsten λ-freier oder gegen λ resistenter Stämme stattgefunden hat. Doch ließen sich in Versuchen von Dr. Lieb (Pasadena, unpubliziert) unter unseren Temperaturmutanten nur 5 nichtlysogene Stämme nachweisen; sie waren gleichzeitig gegen λ resistent. Es besteht aber stets die Möglichkeit, daß die übrigen Stämme die Bestrahlung wohl als phagenfreie Organismen überlebt haben, daß sie aber nach der Bestrahlung sofort wieder von neuem infiziert worden sind. Doch welcher Art auch die Selektion gewesen sein mag, die möglicherweise im Zusammenhang mit λ stattgefunden hat, so besteht doch kein Grund zur Annahme, daß eine derartige Selektion das bestehende Zahlenverhältnis zwischen den Temperaturmutanten der entbehrlichen und unentbehrlichen Klasse verschieben könnte.

In dieser Hinsicht mögen *Selektionen in den Minimalagarschalen*, in welchen die bestrahlten Organismen kultiviert wurden, weit gefährlicher sein. Wir dürfen nicht übersehen, daß wir unsere Mutanten bei Verwendung von mehreren Hundert Kolonien je 150-mm-Schale in Wahrheit keineswegs in einem minimalen Medium isolieren, sondern in einem minimalen Medium plus oder minus was die Hunderte von Wildtypkolonien dem Medium hinzufügen oder entziehen. Dies kommt deutlich in der relativen Ausbeute an Sekundärkolonien und Temperaturmutanten je Anzahl von Überlebenden zum Ausdruck.

Die durchschnittliche Anzahl von Kolonien (und damit von Zellen, welche die Bestrahlung überlebt hatten) je 150-mm-Schale variierte in unseren Experimenten von 100 bis zu 1700 (Tabelle 1). Obwohl die Schalen jeweils am Tage vor dem Ausstreichen gegossen wurden, hatte die Feuchtigkeit der Agaroberfläche in Kombination mit der Schwierigkeit, große Anzahlen von Schalen im Temperaturschrank völlig horizontal zu legen, in mehreren Experimenten die Wirkung, daß höhere Anzahlen von Kolonien je Schale erhalten wurden, als geplant war. Durch Trocknung der unbedeckten Schalen mit der Agaroberfläche nach unten hätte dies vermieden werden können, doch hätte dies die ohnehin schon große Gefahr der Infektion der Schalen noch bedeutend erhöht.

Andererseits hat aber dieser Umstand innerhalb weiter Grenzen der Populationsdichte einen gewissen Einblick in die selektiven Bedingungen erlaubt, die in den Minimalagarschalen herrschen. Es wurde gefunden, daß die relative

Ausbeute an Sekundärkolonien und Temperaturmutanten in den dünn besäten Schalen um vieles größer ist als in den dicht bevölkerten Schalen. Abb. 1 gibt die Anzahl isolierter Sekundärkolonien und Temperaturmutanten je Million Überlebender als Funktion der Anzahl von Kolonien je Schale. Jeder Punkt repräsentiert die Ergebnisse eines einzelnen Experimentes. In den Versuchen, die Populationsdichten von der Größenordnung von durchschnittlich 100 Kolonien

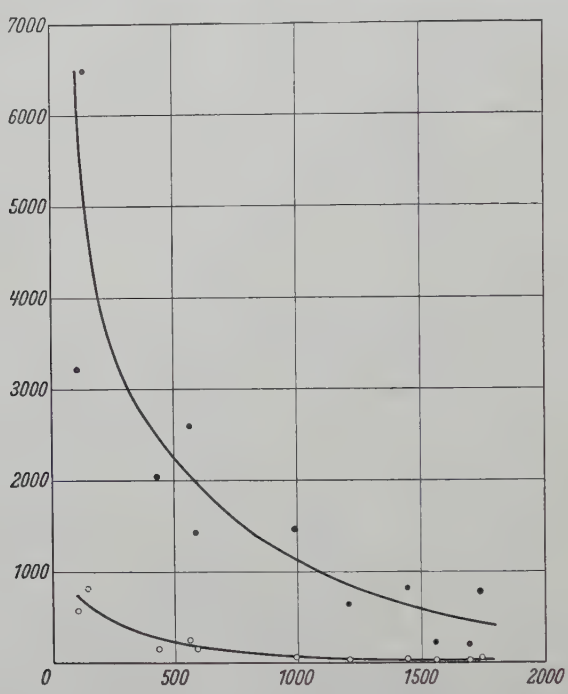


Abb. 1. Ausbeute an Sekundärkolonien (•—•) und Temperaturmutanten (o—o) je Million Überlebender als Funktion der Populationsdichte der Schalen. Jedes Punktepaar repräsentiert die Ergebnisse eines Einzelexperimentes. Abszisse: Kolonien/Schale. Ordinate: Sekundärkolonien (•) und Temperaturmutanten (o) je 10^6 Überlebende.

je Schale aufwiesen, wurden Ausbeuten von 3400 und 6500 Sekundärkolonien je Million Überlebender registriert. Bei höheren Populationsdichten fällt die Ausbeute systematisch und rapid, um in den Experimenten mit durchschnittlich 1200 bis 1700 Kolonien je Schale Werte zwischen 800 und 200 Sekundärkolonien je Million Überlebender zu erreichen. Die Ausbeute an Temperaturmutanten je Million Überlebender beträgt rund ein Zehntel derjenigen an Sekundärkolonien und zeigt dieselbe systematische Abhängigkeit von der Populationsdichte der Schalen. Die übrigen neun Zehntel der Sekundärkolonien setzen sich zusammen aus Wildtypstämmen, die aus dem einen oder anderen Grunde spät zu wachsen begonnen haben; aus nur teilweise blockierten, langsam wachsenden biochemischen Mutanten; und aus vollständig blockierten, biochemischen Mutanten, deren Wachstum auf die syntrophische Ernährung durch die anwesenden Wildtypkolonien zurückzuführen ist. Abb. 2 zeigt, daß die Zusammensetzung der Sekundärkolonien ebenfalls durch die Populationsdichte beeinflußt wird. Wie ersichtlich, fällt die Ausbeute an Temperaturmutanten je 100 Sekundärkolonien mit steigender Dichte,

d. h., daß die Ausbeute an Temperaturmutanten noch schneller abnimmt als die Ausbeute an Sekundärkolonien im allgemeinen.

Zum mindesten 3 selektive Faktoren sind in diesen Populationen am Werk: 1. *Nahrungskonkurrenz*. 2. Vermutlich noch wichtiger: *Gegenseitige Wachstumshemmung* durch Produkte des Stoffwechsels. Und 3. den beiden ersten Faktoren überlagert, aber in der umgekehrten Richtung wirkend, *Syntrophie*, der Austausch von Wachstumsfaktoren. Die ersten 2 Mechanismen sind vermutlich zur Hauptsache für das rapide Abnehmen der Ausbeute an Sekundärkolonien mit steigender Populationsdichte verantwortlich. Indessen handelt es sich um

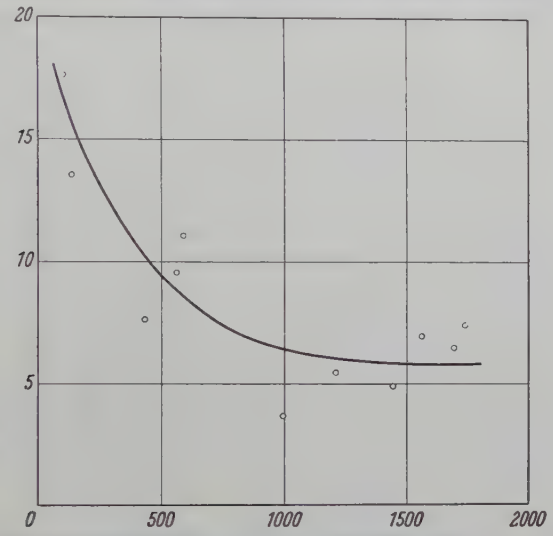


Abb. 2. Ausbeute an Temperaturmutanten je 100 Sekundärkolonien als Funktion der Populationsdichte der Schalen. Jeder Punkt repräsentiert die Ergebnisse eines Einzelexperimentes. Abszisse: Kolonien/Schale. Ordinate: Temperaturmutanten/10^2 Sekundärkolonien.

unspezifische Faktoren, die das Zahlenverhältnis zwischen den beiden uns interessierenden Temperaturmutantenklassen kaum zu beeinflussen vermögen. Die Syntrophie ist in diesem Zusammenhang bedeutend gefährlicher, wenn auch ihre Richtung und Intensität schwierig vorauszusagen sind. Die Wirkung der Syntrophie auf die Isolierung der beiden Arten von Temperaturmutanten hängt sowohl von der Quantität wie auch von der Qualität der vom Wildtyp ins Medium abgegebenen Wachstumsfaktoren ab. Es sei z. B. angenommen, daß die qualitative Zusammensetzung der Exkretion von Wachstumsfaktoren derjenigen des kompletten Mediums entspreche. Große Mengen einer derartigen Anreicherung des Minimalmediums durch die zahlreichen Wildtypkolonien würden den Temperaturmutanten der entbehrlichen Klasse bereits in den ersten 2 Tagen bei 40^0 C ein Wachstum bis zum Punkte sichtbarer Kolonien ermöglichen, mit dem Resultat, daß diese Mutantengruppe der nachfolgenden Isolierung als Sekundärkolonien entginge. Andererseits dürften kleinere Mengen dieser Anreicherung derselben Mutantengruppe einen Vorsprung im Kampfe geben, die ersten 2 Tage an der Mutantentemperatur zu überleben und in der 2. Periode an der tieferen Temperatur unter der schweren Konkurrenz von seiten der wohlbestallten Wildtypkolonien aufzuwachsen. Die tatsächliche Situation ist sicher noch um vieles komplexer,

indem Vorzeichen und Größe der Selektion von Mutante zu Mutante wechseln können.

Indessen läßt sich trotz unbestreitbaren Vorkommens von Syntrophie aus unseren Daten nichts ableiten, was auf eine systematische Selektion zugunsten der einen oder anderen der beiden Temperaturmutantenklassen deutet. Abb. 3 gibt die relative Häufigkeit der Temperaturmutanten der unentbehrlichen Klasse als Funktion der Populationsdichte der Schalen. Jeder Punkt repräsentiert

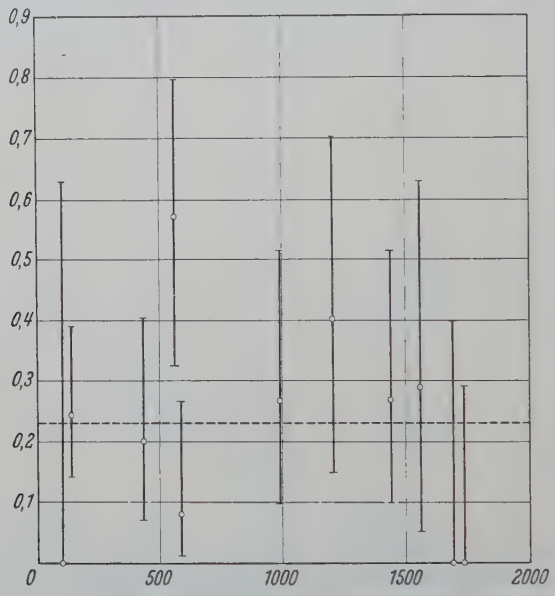


Abb. 3. Häufigkeit der Temperaturmutanten der unentbehrlichen Klasse als Funktion der Populationsdichte der Schalen. Jeder Punkt repräsentiert die Ergebnisse eines Einzelexperimentes, und die Grenzen, innerhalb welcher der tatsächliche Wert auf Grund des betreffenden Experimentes mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% erwartet werden kann, sind durch eine vertikale Linie angedeutet. Unterbrochene Linie: Durchschnittliche Häufigkeit der Temperaturmutanten der unentbehrlichen Klasse. Abszisse: Kolonien/Schale. Ordinate: Häufigkeit der Temperaturmutanten der unentbehrlichen Klasse.

wieder die Resultate eines Einzelexperimentes. Infolge der Kleinheit der Stichproben (3—37 Temperaturmutanten je Experiment) ist der statistische Fehler der Einzelwerte beträchtlich, und die Grenzen, innerhalb welcher der tatsächliche Wert auf Grund der einzelnen Stichprobe mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% erwartet werden kann, sind für jedes Experiment durch eine vertikale Linie angedeutet. Mit der Ausnahme eines einzigen Experimentes mittlerer Populationsdichte stehen die Daten im Einklang mit der Annahme, daß die einzelnen Experimente zufallsmäßige Stichproben aus einer homogenen Population von Temperaturmutanten darstellen, in der die Mutanten der unentbehrlichen Klasse mit einer Häufigkeit von 20—25% vertreten sind. Mit anderen Worten, es bestehen keine Anzeichen dafür, daß die Populationsdichte der Schalen die relative Häufigkeit der beiden Temperaturmutantenklassen beeinflußt: Die verschiedenen selektiven Faktoren wirken offenbar auf die beiden Klassen in gleichem Maße ein.

Zusammenfassung.

Durch Ausstreichen UV-bestrahlter Zellsuspensionen von *Escherichia coli* K 12 auf minimalem Agar, Übertragen der Agarschalen in 40° C für 2 Tage und in 25° C für 5 weitere Tage, und Isolierung von Sekundärkolonien, welche erst an der letzteren Temperatur erscheinen, ist es möglich gewesen, 161 temperaturempfindliche, biochemische Mutanten zu isolieren, die die Fähigkeit des Wildtyps verloren haben, bei 40° C auf minimalem Medium zu wachsen. Die große Mannigfaltigkeit der Wachstumsfaktoren, die von den verschiedenen Mutanten bei 40° C für ein normales Wachstum benötigt werden, zeigt, daß Temperaturmutationen mehr oder weniger zufallsmäßig die verschiedenartigsten, lebenswichtigen Synthesen betreffen können.

Nur 23% der Mutanten weisen bei 40° C Wachstumsbedürfnisse auf, die nicht durch das sog. „komplette" Medium befriedigt werden können, d. h. durch das reichhaltige Medium, das bei *Neurospora* allgemein für die Isolierung biochemischer Mutanten verwendet wird. Nur ein Viertel der Mutanten wäre demnach im üblichen Isolierungsverfahren auf komplettem Medium verlorengegangen. Hieraus wird geschlossen, daß die Intensität der Selektion, welche der quantitativen Erfassung biochemischer Mutanten auf dem kompletten Medium entgegenwirkt, von nur geringer Größenordnung ist. Es läßt sich berechnen, daß sie nicht groß genug ist, um die Isolierung von Mutationen multifunktioneller Gene — falls solche Gene überhaupt existieren — wesentlich zu erschweren. Der Befund, daß die Großzahl der biochemischen Mutanten bei *Neurospora* (nämlich alle, die bis heute genügend untersucht worden sind) nur *eine* wesentliche Genfunktion verloren haben, kann demnach nicht das Kunstprodukt einer starken Selektion zuungunsten der Entdeckung von Genen mit mehr als einer Funktion sein.

Literatur.

Beadle, G. W.: Biochemical genetics. Chem. Reviews **37**, 15 (1945). — Beadle, G. W., and E. L. Tatum: Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **27**, 499 (1941). — *Neurospora* II. Methods of producing and detecting mutations concerned with nutritional requirements. Amer. J. Bot. **32**, 678 (1945). — Bonner, D.: Biochemical mutations in *Neurospora*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **11**, 14 (1946). — Davis, B. D.: Isolation of biochemically deficient mutants of bacteria by penicillin. J. Amer. Chem. Soc. **70**, 4267 (1948). — Studies on nutritionally deficient bacterial mutants isolated by means of penicillin. Experientia **6**, 41 (1950). — Horowitz, N. H.: The one gene — one enzyme hypothesis. Genetics **33**, 612 (1948). — Biochemical genetics of *Neurospora*. Adv. Genetics **3**, 33 (1950). — Horowitz, N. H., and U. Leupold: Some recent studies bearing on the one gene — one enzyme hypothesis. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. (im Druck). — Lederberg, E. M.: Lysogenicity in *E. coli* K-12. Genetics **36**, 560 (Abstract). — Lederberg, J., and N. Zinder: Concentration of biochemical mutants of bacteria with penicillin. J. Amer. Chem. Soc. **70**, 4267 (1948). — Weigle, J. J., and M. Delbrueck: Mutual exclusion between an infecting phage and a carried phage. J. Bacter. **62**, 301 (1951).

Dr. Urs Leupold, Laboratoire de Génétique; 13, Rue Pierre Curie, Paris Ve.

Dr. N. H. Horowitz, Kerckhoff Laboratories of Biology, California Institute of Technology, Pasadena 4, California.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 84, S. 320—360 (1952).

Zoologisch-Vergleichend-Anatomisches Institut der Universität Zürich.

ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEN SPEICHELDRÜSEN, DEM DARMTRAKTUS UND DEN IMAGINALSCHEIBEN EINER LETALRASSE (*lgl*) VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von

Hans Grob*.

Mit 21 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. März 1952.)

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung und Problemstellung 321
Material und Methode 321
I. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen 322
1. Zur Normalentwicklung der Speicheldrüsen 322
2. Das Wachstum der normalen und letalen Speicheldrüsen 325
3. Unterschiede in der Kernzahl normaler und letaler Speicheldrüsen 331
4. Zur Histologie des Imaginalringes der Speicheldrüse 332
a) Der histologische Bau der normalen Speicheldrüse 332
b) Der histologische Bau der letalen Speicheldrüse 333
5. Prüfung der Entwicklungspotenz des Imaginalringes 334
a) Transplantation eines normalen Imaginalringes in normalen Wirt 335
b) Transplantation eines letalen Imaginalringes in normalen Wirt 336
c) Transplantation von 3tägiger Ringdrüse in 3tägige Letallarven 338
d) Transplantation von 4tägiger Ringdrüse in 4tägige Letallarven 338
e) Experimente zur Abklärung der Frage der autonomen Auswirkung des Letalfaktors 339
II. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen am Darmtraktus 339
1. Das Verhältnis von Darmlänge zur Körperlänge bei letalen und normalen Larven 339
2. Untersuchungen am Vorderdarm 340
a) Zur Metamorphose des Vorderdarmes 341
b) Experimente zur Bestimmung der Entwicklungspotenzen des Imaginalringes 342
3. Untersuchungen am Mitteldarm 343
4. Untersuchungen am Hinterdarm 344
a) Zur Metamorphose des Hinterdarmes 345
b) Experimente zur Abklärung der Entwicklungspotenzen des Imaginalringes 345
c) Transplantation letaler hinterer Imaginalringe 346
III. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Imaginalscheiben 346
1. Morphologische Unterschiede zwischen letalen und normalen Imaginalscheiben 347
2. Die Schäden an den verschiedenen Imaginalscheibenkomplexen 351
a) Der Kopfkomplex 351
b) Der thorakale Komplex 351
IV. Zusammenfassende Diskussion über die Wirkung des Letalfaktors *lgl* 352
Zusammenfassung 358
Literatur 359

* Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. E. Hadorn möchte ich für die Ratschläge und das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat, herzlich danken. An dieser Stelle möchte ich auch Herrn P.D. Dr. H. Gloor meinen Dank aussprechen für die Anteilnahme am Zustandekommen dieser Arbeit.

Einleitung und Problemstellung.

Der Letalfaktor *lgl (lethal giant larvae)* von *Drosophila melanogaster* verursacht charakteristische Störungen der larvalen Entwicklung, die am Ende der Larvenperiode zum Tode führen. Die für *lgl* homozygoten Larven unterscheiden sich von den normalen Individuen schon makroskopisch durch ihre größere Durchsichtigkeit, die durch Vermehrung der Hämolymphe einerseits und Unterentwicklung innerer Organe, insbesondere des Fettkörpers, andererseits, zustande kommen. Gegen Ende der Entwicklungsperiode werden die letalen Larven deutlich größer als die Normalen. Sie überleben das normale Verpuppungsalter um kurze Zeit, höchstens einige Tage, ohne sich aber jemals verpuppen zu können. Vielmehr sterben die Larven regelmäßig, ohne innere Verpuppungsvorgänge eingeleitet zu haben. Höchstens die der Verpuppung vorangehende Puparisierung kann bei letalen Larven eintreten, führt aber nicht zur Bildung normaler Puparien, sondern liefert sog. Pseudopuppen (Hadorn 1937).

Histologische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen (Hadorn 1937b, 1938, Hadorn und Gloor 1942, Gloor 1943, Scharrer und Hadorn 1938, Chen 1951) haben ergeben, daß der Letalfaktor *lgl* eine ganze Reihe verschiedener physiologischer und morphologischer Abnormitäten, also ein reich differenziertes Schädigungsmuster (Hadorn 1945) bedingt. Diese Vielgestaltigkeit des Wirkungsmusters, zusammen mit den sichtbaren Auswirkungen des Letalfaktors auf einem relativ fortgeschrittenen Stadium der Individualentwicklung, bilden günstige Voraussetzungen für eine experimentelle Analyse. Wir können erwarten, an Hand eines derartig geeigneten Beispiels, durch morphologische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen des Schädigungsmusters Einblick in den Wirkungsmechanismus eines Erbfaktors zu gewinnen.

In früheren Arbeiten (l. c.) ist das Verhalten des letalen Integumentes und der letalen Gonaden ausführlich dargestellt worden. In Anlehnung an diese Arbeiten dehnen sich meine Untersuchungen auf weitere Organsysteme mit verschiedenem Schädigungsgrad aus. Ich bezog vor allem die Speicheldrüse, den Darmtraktus und die Imaginalscheiben in meine Experimente ein.

Es galt vor allem folgende Fragen zu beantworten: a) Wie stark sind die verschiedenen Organe durch den Letalfaktor *lgl* organspezifisch geschädigt? b) Wirkt sich der *lgl*-Faktor primär oder sekundär in den verschiedenen Organen aus?

Zusammen mit den oben zitierten Arbeiten von Hadorn und Gloor, sowie einer Mitteilung von Vogt (1948) über die letale Ringdrüse, sollen meine Untersuchungen es ermöglichen, das für *lgl* charakteristische Schädigungsmuster in seiner Ganzheit zu erfassen.

Material und Methode.

Stamm: Verwendet wurde ein Stamm *lgl cn bw/Cy* (*lethal giant larvae*, 2 — 0,0 ±; *cinnabar*, 2 — 57,5, *brown*, 2 — 104,5, balanciert über *Curly*, *C2LC2R*). Wie Hadorn (1940) für diesen Stamm nachgewiesen hat, sterben die homozygoten *Cy/Cy*-Tiere teils als schlüpfreife Embryonen, teils kurz nach dem Schlüpfen. In den Aufzuchten finden sich deshalb nur *lgl cn bw/lgl cn bw* und *lgl cn bw/Cy*-Individuen, wobei die ersteren letal, die letzteren vital sind. Die Homozygoten werden im folgenden als *lgl/lgl*-Individuen bezeichnet, die Heterozygoten als *lgl/Cy*.

Die *lgl/lgl*-Tiere entwickeln sich zunächst äußerlich weitgehend normal. Während sich aber die *lgl/Cy*-Tiere 96 Std nach der Eiablage normal zu verpuppen beginnen, bleiben die

letalen Geschwister weiterhin auf dem larvalen Zustand. Ein Teil derselben stirbt als Larve nach 10—14 Tagen, der andere Teil dagegen bildet ein mehr oder weniger normales Puparium (Pseudopuppen nach HADORN 1937). Innerhalb dieser Pseudopuppen ist eine normale Entwicklung der Organe in imaginaler Richtung ausgeschlossen, da die Imaginalanlagen zum Teil geschädigt sind. Dies bezieht sich hauptsächlich auf die Imaginalscheiben, wie sie HADORN (1938) beschrieben hat.

Die Zuchtbedingungen: Um ein Larvenmaterial von annähernd gleichem Alter zu bekommen, bringt man kleine Schälchen mit Mais-Zucker-Agarfutter in ein Becherglas, in dem sich 25—30 Pärchen Fliegen aufhalten. Auf diesen Futterbrei legen die Weibchen ihre Eier. Alle 2 Std werden die Schälchen gewechselt und in eine mit demselben Futtergemisch ausgegossene Petrischale übertragen. Sowohl das Futter im Schälchen als auch in der Petrischale werden mit einer Aufschwemmung frischer Hefe benetzt. In den folgenden Angaben wird das Alter der Larven vom Zeitpunkt der Eiablage an berechnet.

Die Versuchstemperatur betrug: 25,0 $\pm$ 1,0° C.

Histologische Technik: Für Schnittpräparate wurde die Fixierung der Objekte in BOUINschem Gemisch vorgenommen, während für Totalpräparate CARNOY vorgezogen wurde. Die Einbettung der Schnittpräparate erfolgte meist über Dioxan in Paraffin. Die Schnittdicke betrug 8—10 μ. Zur Kernfärbung verwendete ich Hämalaun oder Feulgen. Es wurden sowohl Total- als auch Schnitt- und Quetschpräparate hergestellt.

Für die Untersuchung des Darminhaltes mischte ich dem Futter einen Brei von Cochenille-Agar-Zucker bei.

Die Transplantationstechnik: Transplantiert wurde nach der Methode von EPHRUSSI und BEADLE (1936). Die Sterblichkeit betrug bei den kleineren Implantaten (Speicheldrüse, Ringdrüse) etwa 50%, bei größeren (vorderer und hinterer Darmimaginalring) etwa 60%.

Die Meßtechnik: Die zu messenden Organe wurden in Ringerlösung aus dem Larvenkörper herauspräpariert. Von den Speicheldrüsen wurden die Konturen mit dem Zeichenapparat nachgezeichnet und die Länge mit dem Objektmikrometer gemessen. Die Zahlen für die Darmlänge gelten vom Oesophagus bis zur Eintrittsstelle der MALPIGHIschen Gefäße. Nach dem Herauspräparieren aus dem Larvenkörper wurde diese Darmstrecke gezeichnet, mit einem Kurvenmesser gemessen und mit der Körperlänge in Beziehung gebracht. Die Messung der Körperlänge erfolgte am narkotisierten Tier in einem Tropfen Ringerlösung. Die Kernzahlen der Speicheldrüsen wurden folgendermaßen festgestellt: Nach dem Herauspräparieren wurde die Speicheldrüse mit Karminessigsäure gefärbt, mit dem Deckglas leicht gequetscht, so daß alle Kerne möglichst in eine optische Ebene zu liegen kamen. Diese Präparate wurden gezeichnet und an Hand der Zeichnung die Kerne gezählt.

I. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen.

1. Zur normalen Entwicklung der Speicheldrüse.

Eingehende Arbeiten über die Entwicklung und den Bau der Speicheldrüsen liegen vor von ROSS (1939), für *Drosophila melanogaster* und von BODENSTEIN (1943) für *Drosophila virilis.*

Nach POULSON (1937) entstehen die Speicheldrüsen aus der ventralen Wand des Pharynx. Die erste embryonale Speicheldrüsenanlage beobachtete dieser Autor 8 Std nach der Eiablage. Nach 11 Std sind paarige Zellmassen sichtbar, die sich zu einem gemeinsamen Gang, der in den Pharynx mündet, vereinigen. Nach SONNENBLICK (1940) können während der ganzen Bildungsperiode der Speicheldrüse keine Mitosen beobachtet werden. Spätestens nach dem Schlüpfen der Larven, wahrscheinlich aber schon viel früher, ist die Zahl der Zellen des Drüsenkörpers bestimmt und ändert sich nicht mehr während des ganzen Larvenlebens. MAKINO (zit. nach BODENSTEIN 1943) findet bei *Drosophila virilis* 115 Drüsenzellkerne. Meine Zählungen sind in Tabelle 4 zusammengestellt, wo gezeigt wird, daß die Zahl der Kerne in den beiden Schenkeln der Drüse, mit seltenen Ausnahmen, verschieden ist. Dementsprechend ist auch die Länge der

beiden Drüsenschenkel verschieden. Aus Tabelle 4 ist außerdem zu ersehen, daß zwischen männlichen und weiblichen Drüsen ein Unterschied in bezug auf die Anzahl der Zellen besteht. Weibliche Drüsen enthalten durchschnittlich mehr Zellen als männliche.

Die Größenzunahme der Drüse während des larvalen und präpupalen Stadiums beruht nicht auf Zellvermehrung, sondern auf Zellvergrößerung und, besonders in der Vorpuppe, auf der Ausweitung des Lumens.

In der postembryonalen Entwicklung der Speicheldrüse unterscheidet Bodenstein (1943) bei *Drosophila virilis* 11 verschiedene Stadien, die er auf Grund von Form und Größe der Zellen, Struktur und Färbbarkeit des Protoplasmas, Vorhandensein und Ausbildung des Imaginalringes, bestimmen kann.

In den frühen Stadien sind alle Zellen gleichförmig. Im Kern selbst können noch keine Strukturen erkannt werden. Vor der Häutung zum 2. Larvenstadium tritt zwischen Drüsenkörper und Ausführgang eine Gruppe kleinerer Zellen auf. Es ist der Imaginalring der Speicheldrüse, aus dem sich während der Puppenruhe die imaginale Speicheldrüse entwickelt. Dieser Imaginalring wurde erstmals von Kowalevsky (1887) beschrieben. Ross (1939) fand bei *Drosophila melanogaster* diese Zellen, die sich sehr stark färben, erstmals im 2. Larvenstadium. Sicher sind an der Stelle des späteren Imaginalringes schon im 1. Larvenstadium imaginale Zellen vorhanden, sie sind aber noch so wenig zahlreich und so unscheinbar, daß sie der Beobachtung leicht entgehen.

Abb. 1. Speicheldrüse einer weiblichen Normallarve (*lgl Cy*) von 96 Std. *F* Fettkörper; *I* Imaginalring; *p* proximaler Teil mit kleineren Kernen; *d* distaler Teil mit größeren Drüsenkernen. Vergr. 55mal.

Bei meinem Material ergab sich, daß in einer Mischpopulation letaler und normaler Individuen 52 Std nach der Eiablage alle Speicheldrüsen einen gleichartigen Imaginalring ausgebildet hatten. Dadurch wird wahrscheinlich, daß der Imaginalring bei den heterozygoten *lgl/Cy* und bei den homozygoten *lgl/lgl* gleichzeitig angelegt wird.

Im 3. Larvenstadium treten regionale Unterschiede in der Form der larvalen Kerne auf. Im proximalen Teil finden sich kleinere, ovoide Zellkerne, im distalen Teil größere, rundliche (Abb. 1, Tabelle 3). Dieser Kernverschiedenheit liegt auch eine Funktionsverschiedenheit zugrunde. Während man am proximalen, dem leitenden Teil (conducting part nach Ross) nie oder nur selten Zellen in Sekretionsphase findet, sind im distalen, dem sekretorischen Teil, oft Sekretgranula anzutreffen.

Etwa 100 Std nach der Eiablage beginnen die ersten Normallarven mit der Verpuppung. Ein Teil der larvalen Organe wird während der Vorpuppen- bzw. Puppenzeit histolysiert und durch imaginale Organe ersetzt.

Starke Vakuolisierung des Protoplasmas ist erstes Anzeichen für die Histolyse der Speicheldrüse. Diese Vakuolisierung kann bereits an 96stündigen Larven festgestellt werden (Abb. 2). Sie nimmt ihren Anfang in der Umgebung des Zellkernes (Abb. 2). Abgesehen von einem starken Wachstum der Speicheldrüse ist äußerlich diese Vakuolisierung erkennbar an der milchig-weißen Färbung der Drüse. Diese Auflockerung des Protoplasmas beginnt am distalen Teil und breitet sich allmählich über die ganze Drüse aus. Nach den Angaben von Ross würde dieser Vorgang seinen Anfang erst 5 Std nach der Puppariumbildung nehmen. Das starke Wachstum der Speicheldrüse während der Verpuppungsperiode sollte demnach erst 5 Std nach der Puppariumbildung einsetzen. Diese

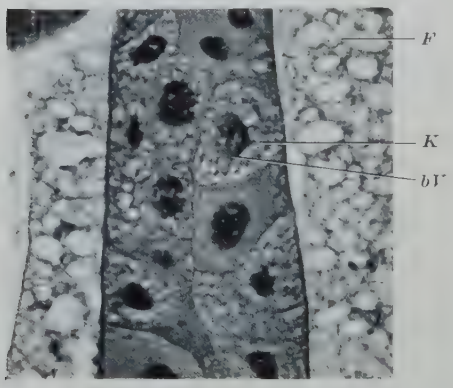


Abb. 2.

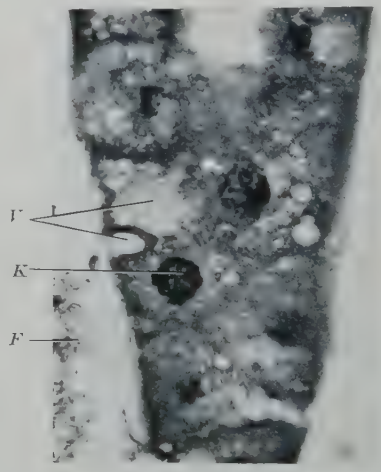


Abb. 3.

Abb. 2. Sagittalschnitt durch eine normale Speicheldrüse von 96 Std. *F* Fettkörper; *bV* beginnende Vakuolisierung um den Kern; *K* Kern. Vergr. 450mal.

Abb. 3. Beginn des Zerfalls der larvalen Speicheldrüse einer Normallarve. *F* Fettkörper; *V* Vakuolen; *K* Zellkern. Vergr. 450mal.

Befunde stimmen mit den meinigen nicht überein, wie weiter unten noch gezeigt wird.

Nach ROBERTSON (1936) zerfällt die larvale Speicheldrüse plötzlich etwa 15 Std nach der Bildung des Puparium, wahrscheinlich unter Mithilfe von Phagozyten. Die großen Kerne behalten ihre Form bei, auch wenn das Plasma schon in Brocken aufgeteilt ist (Abb. 3). Ebenso degeneriert in dieser Zeit der Ausführgang, doch ist sein Verschwinden nur sehr schwer festzustellen, da er sich zuerst stark verkürzt (Ross 1939). Die Histolyse der Speicheldrüse ist nach etwa 20—30 Std beendigt (ROBERTSON 1936, Ross 1939), indessen beginnen die Zellen des Imaginalringes zu proliferieren. In einer 36stündigen Puppe hat die adulte Speicheldrüse das Abdomen erreicht, noch 60 Std ist sie vollständig differenziert.

Die imaginale Speicheldrüse zerfällt morphologisch nicht mehr in einen leitenden und einen sekretorischen Teil. Die großen typisch larvalen Kerne sind durch kleinere ersetzt. Das Chromatin ist massiert und weist nicht mehr die polytäne Chromosomenstruktur auf. Das Protoplasma ist stark vakuolisiert, besonders im aufgewundenen Teil der Drüse, der im Abdomen der Imago liegt.

2. *Das Wachstum der normalen und letalen Speicheldrüsen.*

Morphologisch können die letalen und normalen Larven erst im Alter von 72 Std an Hand der durch genetische Markierung bedingten unterschiedlichen Ausfärbung der MALPIGHIschen Gefäße unterschieden werden. Die Kombination von *cn* und *bw* ergibt im homozygoten Zustand farblose MALPIGHIsche Gefäße, bei den Heterozygoten dagegen sind sie gelb gefärbt wie beim Wildtyp.

Bei 48stündigen Larven können letale und vitale Geschwister noch nicht unterschieden werden. Trotzdem läßt sich feststellen, daß die Längenmaße normaler und letaler Speicheldrüsen übereinstimmen. Trägt man nämlich die Meßwerte auf einer Kurve auf, so ergibt sich keine Zweigipfligkeit. Das Material ist demnach in diesem Stadium in bezug auf Drüsenlänge noch einheitlich.

24 Std später werden dagegen die Längenunterschiede deutlich. Die phänokritische Phase für den Faktor *lgl* liegt hier demnach zwischen 48 und 72 Std. Für die normalen Larven erhalte ich einen Mittelwert von $730{,}7 \pm 18{,}2\ \mu$ für Weibchen, $661.1 \pm 14{,}6\ \mu$ für Männchen. (ROSS findet für dieses Entwicklungsstadium bedeutend kleinere Werte, nämlich etwa $630\ \mu$.) Allerdings fehlt in der Tabelle von ROSS die Angabe des Geschlechtes. Für die letalen Geschwister wurden folgende Zahlen errechnet: für Weibchen $622{,}8 \pm 14{,}6\ \mu$, für Männchen $519{,}3 \pm 14{,}3\ \mu$. Die Unterschiede zwischen letalen und normalen Speicheldrüsen sind gesichert.

Tabelle 1. *Längen- und Breitenwachstum der Speicheldrüse normaler und letaler Larven.* Maße in μ.

Alter in Stunden	Normal: *lgl/Cy*				Letal: *lgl/lgl*			
	♀		♂		♀		♂	
	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n
				Drüsenlänge.				
48	378,8± 9,8	48	380,0± 8,0	49	wie normal		wie normal	
72	730,7±18,2	36	661,1±14,6	53	622,8±15,9	32	519,4±14,3	33
96	1140,7±27,6	100	999,7±21,2	100	693,5±12,0	98	599,2±32,1	100
120	—		—		979,6±35,6	25	837,8±17,4	25
144	—		—		1012,5±41,0	24	889,0±36,9	25
168	—		—		1360,8±54,9	25	1168,8±64,6	25
192	—		—		1279,2±40,6	25	1173,2±31,8	25
216	—		—		1729,1±71,9	22	1640,0±60,3	17
240	—		—		1692,1±45,5	24	1562,0±41,6	25
264	—		—		1560,0±60,9	25	1623,8±86,8	21
				Drüsenbreite.				
48	85,5±2,0	48	87,3±2,6	49	wie normal		wie normal	
72	123,0±3,9	36	115,1±2,5	53	116,1± 3,9	32	107,5± 3,2	33
96	160,5±3,3	100	145,3±1,5	100	96,8± 1,8	98	86,2± 1,6	100
120	—		—		140,0± 4,2	25	128,0± 4,3	25
144	—		—		147,8± 4,3	24	132,4± 3,8	25
168	—		—		188,4±11,5	25	178,4±11,8	25
192	—		—		179,1± 6,9	25	159,2± 7,3	25
216	—		—		260,9±13,8	22	248,2±14,2	17
240	—		—		249,5±10,7	24	226,0± 8,0	25
264	—		—		197,2±11,5	25	253,3±12,7	21

In den ausgewachsenen, verpuppungsreifen Larven von 96 Std ist der Längenunterschied zwischen vitalen und letalen Drüsen noch ausgesprochener (Tabelle 1, Abb. 4 und 5). Abb. 4 gibt neben dem Größenunterschied zwischen normaler und letaler Speicheldrüse auch die Variationsbreite der Länge bei den verschiedenen Genotypen wieder, wobei aus dem 96stündigen Untersuchungsmaterial die extremsten Beispiele ausgewählt wurden. Die genauen Zahlen für die verschiedenen Altersstadien sind in Tabelle 1 und 2 angegeben.

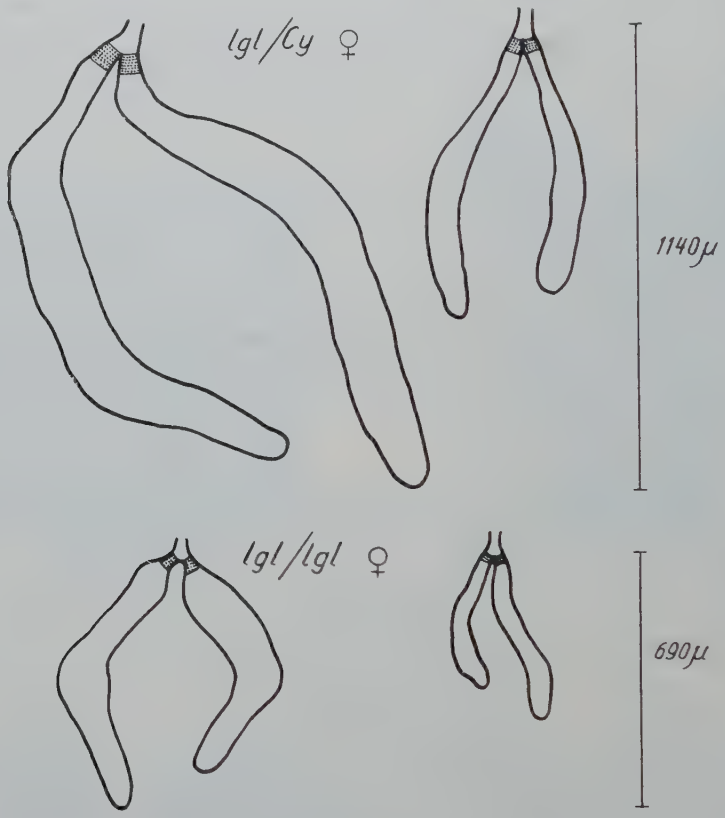


Abb. 4. Variation im Längenwachstum normaler und letaler Speicheldrüsen von 96stündigen Larven. Die Maßangaben in µ geben für beide Genotypen den höchsten gemessenen Wert der Schenkellänge an.

Bei 72stündigen Larven beträgt der Längenunterschied zwischen normalen und letalen weiblichen Speicheldrüsen 14%, bei 96stündigen Larven steigert sich dieser Unterschied gar auf 38%. Der Unterschied von 10% zwischen normalen weiblichen und männlichen Speicheldrüsen bleibt sowohl bei 72stündigen als auch bei 96stündigen Larven bestehen und ist statistisch gesichert.

Bis zu 72 Std ist das Wachstum der letalen Speicheldrüse vom Normalen nur wenig abweichend. Von diesem Zeitpunkt an tritt aber eine starke Verzögerung ein. Nach etwa 100 Std verpuppen sich die normalen Larven. Die Speicheldrüse nimmt in den ersten 4 Std des Vorpuppenstadiums stark an Länge, namentlich aber auch an Breite, zu (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Längen- und Breitenwachstum der Speicheldrüse nach der Puppariumbildung.* Die Maße sind in μ angegeben.

Stunden nach Puparium-bildung	Drüsenlänge				Drüsenbreite			
	♀		♂		♀		♂	
	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n
1—2	1743,0±58,2	20	1601,6±55,4	19	298,5±10,5	20	275,0±12,6	19
3—4	1773,4±35,5	18	1486,0±32,0	19	293,4± 7,1	18	279,7±10,9	19
5—6	1517,0±40,9	21	1513,1±37,4	17	266,2± 8,1	21	259,4±16,0	17
7—8	1582,3±47,6	23	1470,0±56,6	19	292,6± 9,7	23	240,7±10,9	19
9—10	1507,0±52,0	20	1568,0±34,4	19	275,0± 8,6	20	255,8± 7,1	19
11—12	1287,5±33,5	17	1203,0±37,1	20	244,0±11,4	17	222,5± 8,4	20

Meine Resultate zeigen große Unterschiede gegenüber den Befunden von Ross (1939) und Robertson (1936). Beide Autoren fanden, daß die Speicheldrüse bis zur 5. Std der Vorpuppe auf dem Stadium der verpuppungsreifen Larve verharrt, und daß erst nach dieser Zeit die starke Vakuolisierung und damit das starke Wachstum der Speicheldrüse einsetzt. Die Tatsache, daß in meinem Stamm die Vakuolisierung und somit das Wachstum früher beginnt als im Wildstamm von Ross, könnte vielleicht auf genotypischer Verschiedenheit der beiden Stämme beruhen.

Die letalen Individuen leben als Larven weiter und sterben später als Larven oder bilden die sog. Pseudopuppen. Da aber die Imaginalscheiben stark degeneriert sind, kann im Puparium keine Puppe entstehen (Hadorn 1937). Die Speicheldrüsen dieser überlebenden Larven wachsen weiter (Abb. 5) und erreichen nach 144 Std die Drüsenlänge einer verpuppungsreifen Normallarve. Die Körpergröße verändert sich dagegen kaum mehr wesentlich (Gloor 1945). Auf die Relation Speicheldrüsenlänge/Körpergröße kommen wir weiter unten noch zurück (S. 330).

Das Maximum wird am 10. Tag erreicht mit einer Länge von 1729,1 ±71,9 μ; es liegt also noch um etwa 100 μ höher als das Maximum einer normalen Speicheldrüse 4 Std nach der Puppariumbildung. Der Abfall der Kurve zwischen dem 10. und 11. Tag hat keine Bedeutung. Gloor fand ebenfalls für die Körpergröße in diesem Stadium eine Abnahme. Dies rührt wahrscheinlich daher, daß die größeren Dauerlarven schon vor dem 10. Tag Pseudopuppen bilden, so daß nur noch die kleineren Larven der Messung zugänglich waren.

Wie wir noch später sehen werden (S. 31), weisen die letalen Speicheldrüsen eine geringere Kernzahl auf als die normalen (Tabelle 4). Diese Verschiedenheit der Kernzahl ist am verzögerten Wachstum der letalen Speicheldrüsenlänge mitbeteiligt, kann jedoch nicht allein ausschlaggebend sein, da sonst bereits 48stündige Larven diese Schäden aufweisen müßten, was indessen nicht der Fall ist. An dieser Wachstumsbeschränkung ist auch die Reduktion der Kern- bzw. Zellgröße der Speicheldrüsen mitbeteiligt.

Tabelle 3 gibt Auskunft über die Größenverhältnisse der Kerne 96stündiger letaler und normaler Larven. Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die *lgl/lgl*-Kerne bedeutend kleiner sind als die normalen. Außerdem fällt der äußerst

geringe Größenunterschied zwischen den Kernen des sekretorischen und des leitenden Teiles bei den letalen Individuen auf. Dies scheint auf den ungenügenden Entwicklungsgrad der letalen Speicheldrüsen hinzuweisen, denn auch bei den jüngeren Larvenstadien normaler Individuen sind die Größenunterschiede der Kerne dieser beiden Drüsenzonen nicht ausgesprochen.

Trotz der verminderten Kernzahl und der Reduktion der Kerngröße wird aber der Rückstand im Wachstum aufgeholt, einerseits durch die starke Vakuoli-

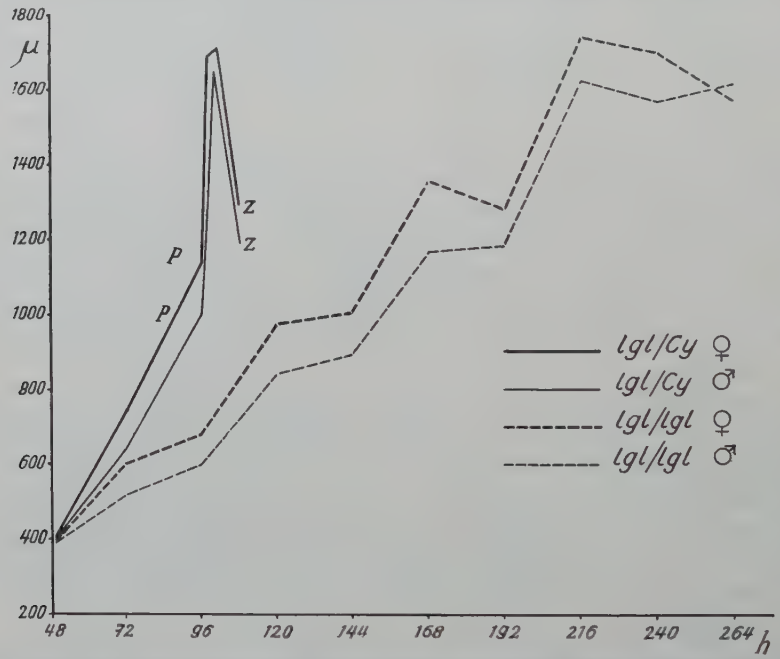


Abb. 5. Verlauf der Mittelwertskurve für das Wachstum normaler und letaler Speicheldrüsen. *P* Zeitpunkt der Puppariumbildung; *Z* Beginn des Zerfalls der normalen Speicheldrüse im Puparium. Die Zahl der gemessenen Individuen ist für die verschiedenen Entwicklungsphasen in Tabelle 1 angegeben.

sierung des Protoplasmas, andererseits durch die Zunahme der Kerngröße. Abb. 6 zeigt die Beschaffenheit des Plasmas bei einer 4tägigen letalen Larve. Das fixierte Plasma ist netzförmig strukturiert mit kleinen Vakuolen. Mit dem 7. Tag tritt dann das starke Wachstum ein, deutlich kann man an den Präparaten die Zunahme der Zahl der Vakuolen erkennen. Eine starke Längenzunahme ist in dem Moment festzustellen, wo die Larven keine Nahrung mehr zu sich nehmen, bei Normallarven also kurz nach der Puppariumbildung. Die Letallarven dagegen verzichten erst vom 7. Tage an auf Nahrungsaufnahme, wie ich dies an Hand von Fütterungsversuchen zeigen konnte (S. 339).

Die Vakuolen im Plasma nehmen an Zahl und Größe ständig zu, so daß bei einer 11tägigen Dauerlarve (Abb. 7) die histologischen Verhältnisse der Speicheldrüse denjenigen einer $10^1/_2$stündigen Vorpuppe entsprechen (vgl. Abb. 3). Das Chromatinmaterial reagiert auch in älteren Larven stark auf Feulgen. Die älteren Kerne färben sich stärker blau. Die Bandstruktur des Chromatins wird mit zunehmendem Alter undeutlich.

In der Pseudopuppe zeigt die larvale Speicheldrüse progressive Degenerationserscheinungen. Diese machen sich nicht nur im Plasma durch starke Vakuolisierung geltend, sondern auch in den Zellkernen. Abgesehen vom Undeutlichwerden des Chromatins dieser Pseudopuppenkerne, nimmt auch die Kerngröße ab (Abb. 8). Auffallend

Tabelle 3. *Kerngröße letaler und normaler Speicheldrüsen.* Maße in μ. Alter der Larven: 96 Std.

Geschlecht	Genotyp	n	Sekretorischer Teil M ± m	Leitender Teil M ± m
♀	normal *lgl/Cy*	200	23,63 ± 0,34	18,1 ± 0,28
	letal *lgl/lgl*	200	10,5 ± 0,28	9,0 ± 0,2
♂	normal *lgl/Cy*	200	22,75 ± 0,27	18,2 ± 0,2
	letal *lgl/lgl*	200	9,66 ± 0,32	9,93 ± 0,16

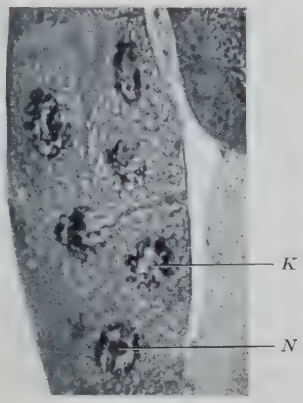


Abb. 6. Sagittalschnitt durch den Drüsenkörper einer 96stündigen Letallarve. *K* Kerne mit Chromatinbandstruktur; *N* Nukleolus. Vergr. 750mal.

ist in diesem Stadium auch die starke Erweiterung des Drüsenlumens, in dem sich oft stark färbbare Sekretmassen ansammeln (Abb. 8).

Vergleichen wir nun die Länge der Speicheldrüse mit der entsprechenden Körperlänge. Gloor (1942) fand, daß die Körperlänge 75- und 100stündiger letaler Larven sichtlich

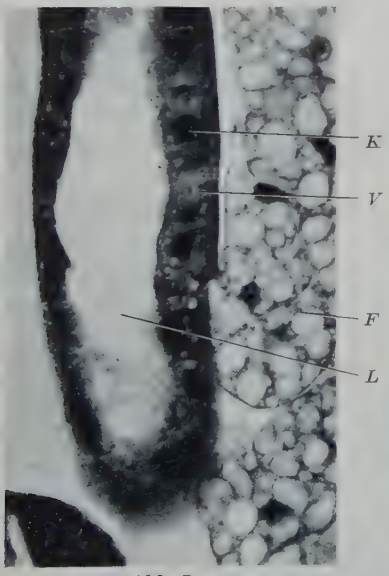


Abb. 7.

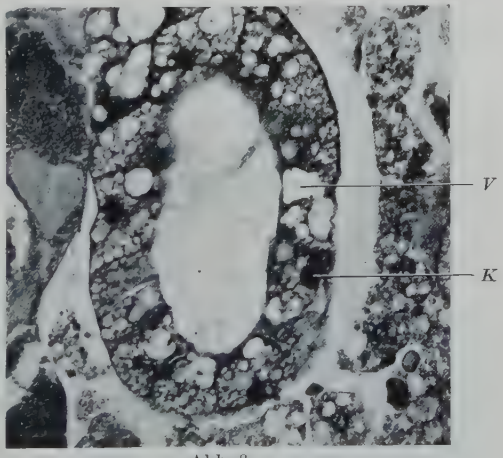


Abb. 8.

Abb. 7. Schnitt durch die Speicheldrüse einer 11tägigen Letallarve. *V* Vakuolen; *K* Kerne; *F* Fettkörper; *L* Drüsenlumen. Vergr. 450mal.

Abb. 8. Speicheldrüse einer *lgl/lgl*-Pseudopuppe. Degeneration des Protoplasmas und der Drüsenkerne. Erweiterung des Drüsenlumens. *K* Kerne; *V* Vakuolen. Vergr. 450mal.

kleiner ist als diejenige normaler Geschwister. Sie ist jedoch im Vergleich zu den Speicheldrüsen kaum gehemmt. Die letalen Speicheldrüsen dagegen bleiben in diesem Alter in ihrem Wachstum sehr stark zurück.

Während die Speicheldrüse einer normalen verpuppungsreifen Larve etwa $^1/_4$ der Körperlänge einnimmt, erreicht die letale Speicheldrüse nur etwa $^1/_7$ der letalen Larvenlänge. Diese Verhältnisse verschieben sich aber mit zunehmendem Alter; denn in diesen späteren Entwicklungsstadien bleibt die Körperlänge letaler Larven mehr oder weniger stationär, die Speicheldrüsen aber holen an Länge stark auf. Die Speicheldrüse einer 144stündigen Larve weist ungefähr die gleichen Längenverhältnisse auf wie die einer Normallarve kurz vor der Verpuppung. Das Wachstum der Speicheldrüse bleibt aber auf diesem Stadium nicht stehen; denn bei 9tägigen Letallarven nimmt die Speicheldrüse bereits $^1/_3$ der Körperlänge ein. Offenbar tritt jetzt die Speicheldrüse in die Wachstumsphase des Vorpuppenstadiums, der Larvenkörper aber verharrt noch im larvalen Zustand. Wir können demnach in der Relation: letales Körperwachstum/letales Speicheldrüsenwachstum folgende 3 getrennte Phasen unterscheiden: a) Wenig gehemmtes Wachstum des larvalen Körpers, dagegen stark gehemmtes Wachstum der letalen Speicheldrüsen. b) Aufholen der Speicheldrüse, die Körperlänge bleibt mehr oder weniger stationär. c) Vorauseilen der Speicheldrüse zu „präpupaler" Größe, Ausbleiben der Vorpuppenentwicklung im Körper.

Diese 3 an Hand der Messungen festgestellten Phasen sind auch von auffallenden histologischen Veränderungen begleitet.

Für die 1. Phase ist die Kleinheit der Kerne und eine intakte Protoplasmamasse kennzeichnend.

In der 2. Phase schwellen die Zellkerne an und das Protoplasma lockert sich auf. Diese Auflockerung finden wir auch bei 96stündigen verpuppungsreifen Normallarven.

Die 3. Phase zeigt nicht nur im Wachstum „pupale" Tendenz, sondern auch im histologischen Bild. Die auffallende Vakuolisierung des Plasmas entspricht durchaus dem Entwicklungszustand der Speicheldrüse in einer normalen Vorpuppe (Abb. 6 und 7).

Die Wachstumshemmung ist weitgehend organ- bzw. zellspezifisch. Der Faktor *lgl* schädigt nicht nur imaginales Gewebe, wie wir dies später noch zeigen werden (S. 337), sondern auch larvales, das normalerweise bei Metamorphoseprozessen im Vorpuppenstadium abgebaut wird und durch imaginales Gewebe ersetzt wird.

Das Wachstum der Speicheldrüsen erfolgt, wie wir aus Abb. 5 ersehen, rhythmisch. Es lösen sich Perioden stärkeren mit solchen schwächeren Wachstums ab. Dies gilt sowohl für das Längen- als auch für das Breitenwachstum (Tabelle 1).

Welche Faktoren liegen diesem rhythmischen Wachstumsprozeß zugrunde? Bodenstein (1943) wies nach, daß das Wachstum der Speicheldrüsen hormonal gesteuert wird. Auf das Wachstum der letalen Speicheldrüse hat aber nach unseren Befunden (S. 338) die Ringdrüse keinen Einfluß.

Eine andere Möglichkeit der Erklärung dieses rhythmischen Wachstums wäre dann gegeben, wenn die Letallarven während der Zeit des Überlebens als Dauerlarven noch zusätzliche Häutungen durchmachen würden. Es könnten somit die „Sprünge" in unserem Kurvenbild je einer Häutungsphase entsprechen. Die histologischen Untersuchungen von Hadorn und Scharrer (1938) ergaben aber, daß die Ringdrüse von *lgl/lgl* die Hormonbildungsphase nicht erreicht. Diese Feststellung gilt jedoch nur für 96stündige Larven. Es wäre immerhin

möglich, daß das Aktionssystem bei älteren Larven genügend Hormon produziert, um zusätzliche Häutungen zu veranlassen, doch fand ich im Futterbrei nie Larvenhäute älterer Larven, so daß auch diese Möglichkeit nicht zutrifft.

Wir sind nicht imstande, eine eindeutige Erklärung über die Ursachen für dieses rhythmische Wachstum zu geben. Eine gewisse Beziehung des von uns beobachteten rhythmischen Wachstums besteht vielleicht zu den Feststellungen, die Risler (1950), an Spinndrüsen von Schmetterlingen machte. Dort beruht offenbar ein rhythmisches Kernwachstum auf Endomitosenzyklen, die zur Polyploidierung führen. Es ist nun möglich, daß der Kurvenverlauf, wie ihn Abb. 5 wiedergibt, auf Kernvorgängen beruht, die rhythmisch zu den höheren Polytäniegraden der Speicheldrüsenchromosomen führen. Daß bei unseren Messungen ein solches rhythmisches Wachstum nur bei letalen, nicht aber bei normalen Speicheldrüsen beobachtet wurden, mag darauf beruhen, daß in der *lgl lgl*-Speicheldrüse die Entwicklung verlangsamt ist und daher mehr Meßstellen relativ zur Entwicklungsleistung vorhanden sind.

3. Unterschiede in der Kernzahl normaler und letaler Speicheldrüsen.

Wie bereits im 1. Kapitel besprochen wurde, beruht das larvale Wachstum der Speicheldrüse nicht auf Zellvermehrung, sondern auf Zellvergrößerung. Die Zahl der Kerne ist jedenfalls mit dem Abschluß der Embryonalentwicklung festgelegt und ändert sich nicht mehr während des Larvenlebens. Wenn man in normalen und letalen Speicheldrüsen die Kerne auszählt, ergibt sich, daß die letalen Speicheldrüsen weniger Kerne enthalten als die normalen (Tabelle 4 und Abb. 9). In Abb. 9 sind die Zahlen des kernreicheren Schenkels der Speicheldrüse auf der Abszisse, die Zahlen des kernärmeren Schenkels auf der Ordinate enthalten. Schwarz bedeutet die Kernzahlen der Letaldrüsen, weiß diejenigen der normalen. Kreisform gibt das weibliche Geschlecht, Quadratform das männliche Geschlecht an (Abb. 9).

Tabelle 4. *Kernzahl normaler und letaler Speicheldrüsen.*

Genotyp	Geschlecht	n	Längerer Schenkel	Kürzerer Schenkel
Normal	♀	18	131,0 ± 2,33	121,4 ± 1,9
lgl/Cy	♂	18	127,5 ± 3,1	118,1 ± 3,8
Letal	♀	18	122,6 ± 2,6	112,3 ± 2,3
lgl/lgl	♂	18	116,9 ± 1,2	107,4 ± 3,1

In jenen Fällen, wo die Zahl der Kerne in beiden Schenkeln gleich ist, müßte der Schnittpunkt auf die Winkelhalbierende fallen. Dies trifft nur in sehr wenigen Fällen zu, mehrheitlich jedoch liegen die Zahlen in unmittelbarer Umgebung der Winkelhalbierenden, es sind jene Fälle, wo die Zahl der Kerne zwischen den beiden Schenkeln nur wenig abweicht.

Diese Abbildung gibt auch eine Illustration zu dem weiter oben Gesagten, wonach die letalen Speicheldrüsen weniger Kerne enthalten. Die Zahlen der letalen Speicheldrüsen sind hauptsächlich im unteren Teil gruppiert. (Sie vermischen sich allerdings auch mit denjenigen der Normaldrüse.) Statistisch gesichert sind allerdings nur die Unterschiede beim längeren Drüsenschenkel der Männchen und dem kürzeren der Weibchen.

Aus der Tatsache, daß die letale Speicheldrüse weniger Kerne aufweist als die normale, können wir schließen, daß der Letalfaktor *lgl* nicht nur eine

Verzögerung des Wachstums der Speicheldrüse bewirkt, sondern auch eine Verminderung des embryonalen Anlagenmaterials. Der Faktor *lgl* greift demnach schon embryonal in das Entwicklungsgeschehen der Speicheldrüse ein, da ja die Zahl der Kerne schon embryonal festgelegt wird, offenbar lange bevor das Wachstum der Speicheldrüse durch den Faktor *lgl* beeinflußt wird.

Zusammenfassend lassen sich auf Grund der Messungen und Zählungen an den Speicheldrüsen folgende Schlüsse über die Wirkung des Letalfaktors ziehen:

Der Faktor *lgl* bewirkt bei den homozygoten Individuen nur eine Verzögerung des Wachstums, nicht aber eine dauernde Wachstumshemmung der Speicheldrüsen. In den überlebenden Larvenstadien steigert sich das Wachstum

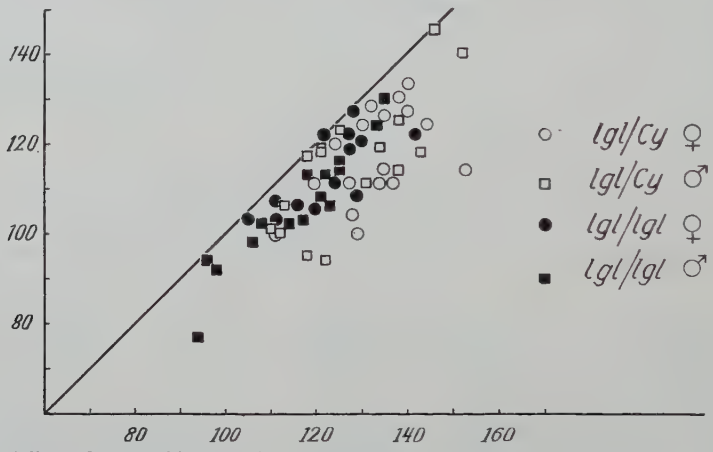


Abb. 9. Darstellung der Anzahl Kerne in den Schenkeln normaler und letaler Speicheldrüsen. Auf der Abszisse Kernzahl des kernreichen Schenkels. Auf der Ordinate Kernzahl des kernarmen Schenkels.

über die „larvale" zu „präpupaler" Größe, der Larvenkörper dagegen verharrt im larvalen Stadium.

Der Letalfaktor greift schon frühzeitig (spätestens beim Abschluß der Embryonalentwicklung) in das Entwicklungsgeschehen ein, denn die letalen Drüsen weisen eine reduzierte Kernzahl auf.

4. Zur Histologie des Imaginalringes der Speicheldrüse.

Es bleibt zu untersuchen, ob mit den äußerlich feststellbaren Unterschieden zwischen „letal" und „normal" auch innere, histologische Unterschiede parallel gehen. Im Hinblick auf die Prüfung der Entwicklungspotenzen interessiert vor allem die Frage, ob im Bereich des Imaginalringes Schädigungen festzustellen sind.

a) Der histologische Bau des normalen Imaginalringes. Histologische Untersuchungen wurden an Total-Schnitt- und Quetschpräparaten, die alle mit Feulgen gefärbt wurden, durchgeführt. Der Imaginalring einer 96stündigen verpuppungsreifen Larve besteht aus kleinen Zellen mit linsenförmigen Kernen (Abb. 10a), die mehr oder weniger regelmäßig in Reihen angeordnet sind. An den beiden Übergangszonen, einerseits zum Drüsenkörper, andererseits zum Ausführungsgang, werden die Kerne etwas größer. Wegen der Kleinheit der Kerne sind auch bei Anwendung von Immersionsvergrößerung Kernstrukturen schwer

zu beobachten. Immerhin ergibt sich doch mit Sicherheit, daß das Chromatinmaterial über den ganzen Kern fein verteilt ist, in keinem der untersuchten Ringe sind Anzeichen intranukleärer Pyknosen feststellbar. Selten sind auch Mitosen. Auch an dem zum adulten Zustand auswachsenden Imaginalring können keine Veränderungen der Chromatinstruktur festgestellt werden, das Chromatin bleibt fein verteilt.

b) Der histologische Bau des letalen Imaginalringes. Es wurde bereits erwähnt, daß der Imaginalring letaler Speicheldrüsen gleichzeitig wie derjenige der Normallarve angelegt wird. Auf alle Fälle weisen sowohl 52stündige Letale, als auch gleichaltrige Normale, Imaginalringe der Speicheldrüsen auf.

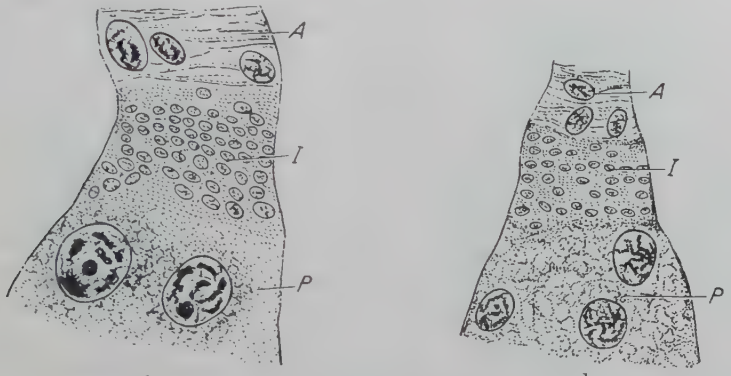


Abb. 10 a u. b. Imaginalringe normaler und letaler 96stündiger Speicheldrüsen. a Normal; b *lgl.* *A* Ausführgang; *I* Imaginalring; *P* proximaler Teil der Speicheldrüse. Vergr. 920mal.

Der Imaginalring einer 96stündigen Letallarve besitzt ebenfalls die kleinen, linsenförmigen Kerne, sie sind aber kleiner als im normalen Imaginalring (Abb. 10b). Die Anordnung der Kerne ist nicht regelmäßig, der zelluläre Aufbau des Ringes ist lockerer. Die Zahl der Kerne ist vermindert. Unterschiede in der Kernstruktur zwischen normalen und letalen 96stündigen Imaginalringen sind nicht festzustellen; auch in diesem Fall ist das Chromatinmaterial fein verteilt, ohne Anzeichen von Pyknosen.

Mit zunehmendem Alter nimmt auch die Zahl der Kerne des Imaginalringes ständig zu. Mitosetätigkeit konnte ich nur sehr selten, und zwar nur an 5-, 6- und 7tägigen Ringen feststellen. Die Frage, ob nicht auch in älteren Stadien Zellteilungen vor sich gehen, ist damit allerdings nicht beantwortet, denn wegen der Kleinheit der Zellen sind Mitosen nur schwer feststellbar. Auch ist eine Zählung der Imaginalringkerne nicht möglich. Deshalb ist es schwierig zu entscheiden, ob ein Imaginalring einer 11tägigen Larve mehr Kerne hat als derjenige einer 7tägigen. Äußerlich erscheint der Imaginalring einer 11tägigen Larve allerdings größer, zum guten Teil ist dies aber auf Zunahme der Kerngröße zurückzuführen (Abb. 11). Wir wissen demnach nicht, ob ein Imaginalring während der ganzen Larvenzeit weiterwächst, oder ob die Zellvermehrungstätigkeit auf einem bestimmten Stadium eingestellt wird.

Der Imaginalring einer 7tägigen Letallarve hat ungefähr die Größe desjenigen einer Normallarve kurz vor der Puppariumbildung.

Die Untersuchung von Imaginalringen 6tägiger Larven ergab, daß in einzelnen Kernen das Chromatin pyknotisch geballt ist. Solche intranukleäre Pyknosen werden mit zunehmendem Alter der Larven immer deutlicher und häufiger (Abb. 11). GLOOR (1942) fand solche Degenerationserscheinungen auch in den Keimzellen der letalen Hoden. Die Pyknosen treten aber bei den Hoden schon früh-larval auf, bei den Kernen des Imaginalringes dagegen erst nach 150 Std, also in dem Moment, da die Speicheldrüse die Länge einer normalen Speicheldrüse erreicht.

Zusammenfassend ist festzustellen: Der Letalfaktor *lgl* wirkt sich histologisch zunächst durch Hemmung der Zellbildung des Imaginalringes aus, denn ein Vergleich von Imaginalringen 96stündiger normaler und letaler Speicheldrüsen ergibt bei Letalen neben Kleinkernigkeit auch noch eine Reduktion der Kernzahl. Dieser Rückstand wird in älteren Stadien teilweise aufgeholt. Die Schädigung des letalen Imaginalringes wird besonders durch das Auftreten intranukleärer Pyknosen in allen älteren Larvenstadien deutlich. Es liegt demnach eine gewebsspezifische Schädigung vor, indem der Letalfaktor nur die Kerne des Imaginalringes, nicht aber die Kerne des übrigen Drüsenkörpers schädigt.

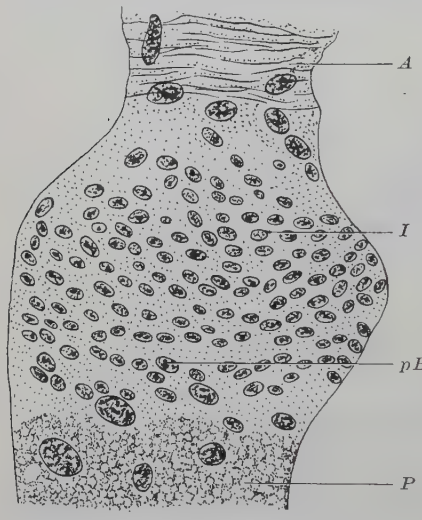


Abb. 11. Imaginalring einer 11tägigen *lgl*/*lgl*-Speicheldrüse. *A* Ausführgang; *I* Imaginalring; *P* proximaler Drüsenteil; *pB*. intranukleäre Ballung des Chromatins. Vergr. 920mal.

5. Prüfung der Entwicklungspotenzen des Imaginalringes.

Die Messungen und die histologischen Untersuchungen ergeben keinen Aufschluß über die Frage, ob *lgl* in den Speicheldrüsen zell- bzw. gewebsletal wirkt und welches Stadium erfaßt wird. Nur das Experiment kann uns über die Leistungen des letalen Gewebes Aufschluß geben. Zwei Möglichkeiten müssen für die Interpretation in Betracht gezogen werden:

Die Entwicklungspotenzen des letalen Imaginalringes könnten zellautonom so stark gestört sein, daß eine Differenzierung in imaginaler Richtung nicht mehr möglich ist, oder aber andererseits könnte das letale Larvenmilieu eine Hemmung für latente normale Entwicklungspotenzen bedeuten.

Für die Untersuchung der *lgl*-Gonaden (GLOOR 1943) stellten sich die gleichen Probleme. Der Grad der Schädigung manifestiert sich nicht gleich stark in der männlichen und weiblichen Gonade. Bei den stark geschädigten männlichen Gonaden treten typische Degenerationserscheinungen an den Keimzellen auf, während die somatischen Elemente kaum unter dem Einfluß des Letalfaktors leiden. Die transplantierten Ovarien ergaben Organe, die sich stark in imaginaler Richtung entwickeln, ohne aber eine vollständige Differenzierung zu erreichen, wie dies im Kontrollexperiment mit normalen Organen der Fall ist. Bei der Transplantation von Hoden differenzierten sich nur die somatischen

Elemente in imaginaler Richtung, die Keimzellen dagegen können sich nicht durchsetzen. Gloor arbeitete mit zwei Systemen: einerseits dem Gegensatz männlich-weiblich, andererseits somatisch-germinativ.

Bei den Speicheldrüsen ist die Problemstellung einfacher, da nur die Entwicklungspotenzen des letalen Imaginalringes zu prüfen waren. Die Schädigung des larvalen Anteils der Drüse wurde im vorangehenden Kapitel ausführlich behandelt.

a) Transplantation eines normalen Imaginalringes in einen normalen Wirt. Dieses Experiment diente der Abklärung der Leistung eines normalen Imaginalringes im Transplantat. Zur Zeit der Durchführung dieser Versuche waren mir die Resultate der Unter-

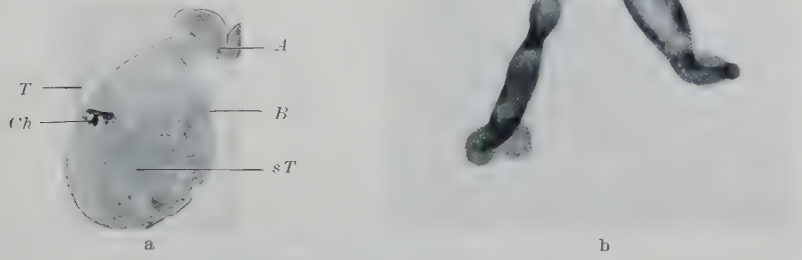


Abb. 12 a u. b. Imaginale Speicheldrüse nach Transplantation normaler Imaginalringe. a Nach Transplantation eines Imaginalrings; *b* nach Transplantation zweier Imaginalringe; *B* Basalmembran; *A* Ausführgang; *Ch* Chitin; *T* Trachee; *sT* sekretorischer Teil. Vergr. 34mal.

suchungen Robertsons (1937) nicht bekannt, der — allerdings unter anderer Problemstellung — die gleichen Experimente durchführte.

Ich transplantierte Imaginalringe mit zugehörigem Ausführgang in verpuppungsreife *lgl/Cy*-Larven. 2—3 Tage nach dem Ausschlüpfen der Fliege wurden die Transplantate herauspräpariert. Sie liegen meist frei im Abdomen, nur ein einziges Mal konnte ich ein Verwachsen des Transplantates mit der Hypodermis feststellen. Meist sind sie reichlich mit feinen Tracheen versehen, mit deren Hilfe sie sich am Darmtraktus, am Geschlechtsapparat oder an den Malpighischen Gefäßen anheften. Die Transplantate haben eine charakteristische Form (Abb. 12a). Sie bestehen aus zwei zusammenhängenden Teilen, einem blasig angeschwollenen und einem schlauchförmigen Fortsatz, der aber in keinem Fall die Länge einer Normaldrüse erreicht.

Die Anschwellung des Transplantates beruht auf Ansammlung von Sekretmassen, die nicht abfließen können, da ein Drüsenausführgang fehlt. Im blasigen Teil finden wir in den meisten Transplantaten die braunen Überreste der chitinigen Intima des larvalen Ausführganges.

Von besonderer Bedeutung ist aber der schlauchförmige Fortsatz. Die histologischen Untersuchungen wurden mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskopes vorgenommen, was mir ermöglichte, Zelleinschlüsse (Zellkern, Vakuolen) und die Differenzierung des Gewebes in vivo zu beobachten. Der histologische Bau eines solchen schlauchförmigen Fortsatzes entspricht der Struktur einer imaginalen Speicheldrüse (Abb. 13).

Die Drüsenzellen sitzen der Basalmembran auf. Sie haben kleine Kerne. In vielen Transplantaten finden sich auch die typischen großen Vakuolen, die die Kerne umgeben. Deutlich sichtbar ist auch in vielen Fällen das Drüsenlumen.

Eigenartig sind die Resultate ROBERTSONS (1937), der fand, daß die Zellen des Transplantates eine Zwischenstellung zwischen larvaler und imaginaler Ausprägung einnehmen. Da mir die Arbeit ROBERTSONS nur als Referat bekannt ist, der die Abbildungen fehlen, ist eine kritische Stellungnahme deshalb nicht möglich.

Die Transplantation zweier Imaginalringe mit dem gemeinsamen Ausführgang der Speicheldrüse führt zum gleichen histologischen Bild wie die Trans-

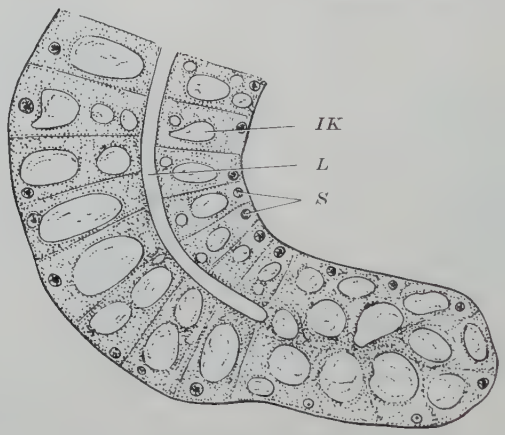


Abb. 13. Schnitt durch den sekretorischen Teil eines normalen Speicheldrüsentransplantates *S* Sekretvakuolen; *L* Drüsenlumen; *IK* Imaginalkerne der Speicheldrüse. Vergr. 450mal.

plantation eines einzigen Ringes, nur daß entsprechend dem Anlagematerial 2 Drüsenschenkel ausgebildet werden. Abb. 12b zeigt eine derartige sehr weit entwickelte imaginale Speicheldrüse.

Das Transplantationsexperiment zeigt uns, daß der normale Imaginalring als Transplantat im Abdomen eines Normaltieres weitgehend zu normaler Differenzierung befähigt ist.

b) Transplantation von letalen Imaginalringen in normalen Wirt. Das nachfolgende Experiment soll uns Aufschluß über die Entwicklungspotenzen des letalen Imaginalringes geben. Zunächst wurden Imaginalringe 5tägiger Larven in normale Wirte implantiert. Bei der später folgenden Präparation der Imagines kamen keine Transplantate zum Vorschein.

Dieses Resultat läßt noch keine bindenden Schlüsse zu, denn es könnte möglich sein, daß die Entwicklungsbereitschaft des 5tägigen Imaginalringes noch nicht so weit ist, um eine Differenzierung in imaginaler Richtung zu gestatten. Deshalb wurde in den folgenden Experimenten mit Imaginalringen verschiedenen Alters gearbeitet (5-, 6- und 7tägige Imaginalringe). Das Resultat blieb dasselbe wie im Fall der Implantation 5tägiger letaler Imaginalringe. Im ganzen wurden 73 erfolgreiche Operationen durchgeführt, in keinem der untersuchten Fälle konnte mit Sicherheit ein Transplantat gefunden werden.

Daß kein Experimentierfehler vorliegt, zeigt folgendes Kontrollexperiment: Ich transplantierte in 15 verpuppungsreife Normallarven je einen normalen Imaginalring. Von 10 geschlüpften Fliegen enthielten 6 mehr oder weniger gut entwickelte Transplantate. Von 28 Fliegen, die sich aus Larven entwickelten, denen je ein letaler Imaginalring implantiert wurde, konnten in keinem Fall Transplantate oder Reste implantierten Gewebes gefunden werden. Der Wirt scheint das implantierte Gewebe zu resorbieren.

Aus diesen Experimenten schließen wir, daß der letale Imaginalring nicht fähig ist, sich in imaginaler Richtung weiter zu entwickeln. Er ist irreparabel geschädigt und die Fähigkeit zur Weiterentwicklung ist blockiert.

Der Letalfaktor *lgl* schädigt selektiv nur die Zellen des Imaginalringes dauernd, der eigentliche larvale Drüsenkomplex dagegen ist nicht dauernd gehemmt, wie dies die Meßresultate an der letalen Speicheldrüse gezeigt haben.

Die Tatsache, daß der letale Imaginalring nicht differenzierungsfähig ist, entscheidet die Frage noch nicht, ob die Schädigung direkt durch das Gen *lgl* in der Drüsenzelle selbst verursacht wird, oder ob der Letalfaktor ein übergeordnetes System angreift, das dann indirekt die Schädigung der Drüse bewirkt; d. h. es gilt, die Frage der primären oder sekundären Pleiotropie abzuklären (Hadorn 1945, 1948a und b, 1951).

Wir verzichten vorläufig auf die Diskussion der Pleiotropieverhältnisse bei den Gonaden, da wir später noch Gelegenheit haben, diese wichtige Frage im Zusammenhang mit der Charakterisierung des *lgl*-Typus zu erörtern (S. 354). Hadorn (1945, 1951) versteht unter primärer Pleiotropie ein System, bei dem sich die ein Manifestationsmuster verursachenden Gene in den merkmalsbildenden Zellen selbst auswirken („intrinsic factors"). Die Phäne werden also einzeln durch die zelleigene Konstitution bedingt. Im Falle der sekundären Pleiotropie dagegen verursacht ein Gen die Merkmalsbildung auf dem Umweg über eine primäre Auswirkung in fremden Zellen („extrinsic factors" Hadorn 1950 und 1951).

Für die nachfolgenden Experimente war der Gedanke wegleitend, daß eventuell primär die Ringdrüse durch den Letalfaktor geschädigt würde und daß dann durch deren Nichtfunktionieren oder ungenügendes Funktionieren sowohl das Wachstum gehemmt, als auch die Metamorphosepotenz der Speicheldrüse geschädigt werde.

Die Untersuchungen Bodensteins (1943) über Wachstums- und Metamorphosefaktoren der Speicheldrüse von *Drosophila virilis* haben gezeigt, daß ohne Ringdrüse kein Wachstum und keine Metamorphose zustande kommen kann. In Korrelation mit dem Entwicklungsablauf der Speicheldrüse während des larvalen Lebens wirkt die Ringdrüse zunächst auf die Wachstumsvorgänge und in älteren Larven auf die Metamorphosebereitschaft der Speicheldrüse.

Eine eingehende Analyse der *lgl*-Ringdrüse verdanken wir Vogt (1947). Nach dieser Autorin sind die larvalen Hauptzellen und das adulte Corpus allatum der Ringdrüse in ihrer Ausbildung gehemmt, in den Zellstrukturen zeigen sich aber keine Degenerationserscheinungen. Das 3. Organ (Corpora cardiaca), das am Bau der Ringdrüse beteiligt ist, ist dagegen normal. Das *lgl*-Corpus allatum ist aber trotz Wachstumshemmung zu einer Normalleistung befähigt, denn

VOGT konnte in ihren Experimenten die gonadotrope Wirkung dieser Ringdrüsen nachweisen.

Zu ähnlichen Befunden kamen SCHARRER und HADORN (1938). Die Ringdrüse erreicht die Hormonbildungsphase nicht, sondern bleibt auf einem Stadium stehen, das mit Ringdrüsen junger, noch nicht Metamorphose-bereiter Normallarven verglichen werden kann. HADORN und NEEL (1938) erzielten mit solch unterentwickelten Ringdrüsen keine Puppariumbildung, dagegen wohl mit normalen Ringdrüsen.

Durch Implantation funktionstüchtiger Ringdrüsen versuchten wir diesen Defekt auszugleichen. Dieses Experiment würde uns auch Antwort auf die Frage geben, ob die Wirkung des *lgl*-Faktors an der Speicheldrüse selbst angreift, oder ob die Schädigung abhängig ist vom Versagen der Ringdrüse.

Tabelle 5. *Speicheldrüsenlänge letaler Larven nach Transplantation normaler Ringdrüsen.*

Genotyp	Geschlecht	n	Speicheldrüsenlänge in μ
a) Transplantation 3tägiger Ringdrüsen in 3tägige Letallarven.			
lgl/lgl	♀	19	877,0 ± 46,9
lgl/lgl	♂	17	685,7 ± 7,4
Kontrollen.			
lgl/Cy	♀	17	1093,0 ± 46,1
lgl/Cy	♂	16	799,3 ± 47,7
b) Transplantation 4tägiger Ringdrüsen in 4tägige Letallarven.			
lgl/lgl	♀	18	960,0 ± 38,1
lgl/lgl	♂	17	842,1 ± 26,8
Kontrollen.			
lgl/Cy	♀	17	1042,0 ± 32,1
lgl/Cy	♂	16	917,3 ± 34,6

c) Transplantation von 3tägigen normalen Ringdrüsen in 3tägige Letallarven. Es wurden 3tägige *lgl/lgl*-Larven zu dem Experiment verwendet, da in dieser Entwicklungsphase erstmals der Unterschied im Wachstum letaler und normaler Speicheldrüsen manifest wird (Abb. 5). Nach 2 Tagen wurden aus den Larven die unter dem Einfluß der normalen Ringdrüse gestandenen Speicheldrüsen herauspräpariert und gemessen. Die Resultate sind aus Tabelle 5 ersichtlich. Die operierten Tiere haben Speicheldrüsen, die in ihrer Länge weit hinter jenen der Kontrolle zurückbleiben. Aus den Resultaten läßt sich mit aller Deutlichkeit schließen, daß eine normale 3tägige Ringdrüse keinen Einfluß auf das Wachstum der letalen Speicheldrüsen hat. Man könnte sich nun vorstellen, daß in einer 72stündigen Ringdrüse noch zu wenig Hormon gebildet wurde, um wirksam den Wachstumsprozeß der Speicheldrüse zu steuern. Im folgenden Experiment arbeiteten wir daher mit älteren Ringdrüsen.

d) Transplantation von 4tägigen Ringdrüsen in 4tägige Letallarven. Zwei Tage nach der Operation wurden die Speicheldrüsen wiederum aus den Larven herauspräpariert und gemessen. Die Resultate sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

Auch in diesem Versuch sind die Mittelwerte der Speicheldrüsenlänge der Kontrolltiere größer als diejenigen der Operierten. 60% der Letallarven hatten bis zur Zeit der Präparation Pseudopuppen gebildet, ein Beweis dafür, daß kein nennenswerter Experimentierfehler vorliegt; da ja das Integument auf die Abgabe von Ringdrüsenhormon reagierte, nicht aber die letale Speicheldrüse.

Diese Experimente zeigen, daß nicht die Schädigung der Ringdrüse für die Hemmung des Wachstums verantwortlich ist. Auch kann durch Implantation normaler Ringdrüsen das Versagen des Imaginalringes, sich in imaginaler Richtung weiter zu entwickeln, nicht aufgehoben werden. Die Störung der Ent-

wicklungsprozesse der letalen Speicheldrüse muß auf direkter, primärer Einwirkung des Letalfaktors beruhen. Auch das Alter der Ringdrüse spielt für die Beeinflussung des letalen Speicheldrüsenwachstums keine Rolle.

e) Experimente zur Frage der autonomen Auswirkung des Letalfaktors. Bodenstein (1943) transplantierte Speicheldrüsen älterer Larvenstadien in Junglarven. Dabei konstatierte er, daß diese Speicheldrüsen gegenüber den wirtseigenen in der Entwicklung vorauseilen. Es liegt demnach eine autonome Entwicklungsleistung vor.

Transplantieren wir nun Imaginalringe verpuppungsreifer Normallarven in 5—6tägige Letallarven, so ergeben sich folgende Befunde:

Die Transplantate entwickeln sich kaum weiter. Die großen larvalen Speicheldrüsenkerne persistieren und zeigen auch nach 2tägigem Aufenthalt in der Letallarve keine Anzeichen histolytischer Beeinflussung. Auch der Imaginalring, der sich unter normalen Umständen 36 Std nach der Puppariumbildung zur imaginalen Speicheldrüse entwickelt hätte, zeigt weder im histologischen Bild noch in der Größe Veränderungen. Die Weiterentwicklung wird durch das letale Milieu gehemmt, was wahrscheinlich auf den Wegfall der fördernden Wirkung des Hormonsystems zurückzuführen ist.

Zusammenfassend lassen die Transplantationsexperimente folgende Schlüsse zu: Der letale Imaginalring besitzt die Potenz zur Entwicklung in imaginaler Richtung nicht. Der Letalfaktor *lgl* greift direkt das Imaginalgewebe an. Ein Zusatz normaler Ringdrüsen vermag die Schädigung nicht aufzuheben.

II. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen am Darmtraktus.

Hadorn (1945) rechnet den Darmtraktus der homozygoten *lgl/lgl*-Individuen zu jenem System, das außerhalb des Manifestationsbereiches des Letalfaktors liegt.

Die Problemstellung für dieses Organsystem bleibt die gleiche wie für die Speicheldrüsen, wobei neben der histologischen Analyse ebenfalls die Prüfung der Entwicklungspotenzen der Imaginalanlagen durchzuführen war.

Für die Topographie und den histologischen Aufbau der einzelnen Darmabschnitte verweise ich auf die ausführliche Arbeit Strasburgers (1932). Robertson (1936) und Marlier (1940) beschreiben die Metamorphoseprozesse. Pérez (1910) untersuchte die Darmverhältnisse bei *Calliphora*.

1. Das Verhältnis von Darmlänge zu Körperlänge bei letalen und normalen Larven.

Die Messungen der Darmlänge ist stets mit großen Schwierigkeiten verbunden, da der Füllungszustand die Länge des Darmes außerordentlich zu beeinflussen vermag. Um diesen Schwierigkeiten möglichst auszuweichen, verzichtete ich auf die Messung des Enddarmes, da darin die Nahrung zu lange liegenbleibt und deshalb die Resultate sehr stark verfälscht. Bei der Messung der Darmlänge wurde folgendermaßen vorgegangen: Aus einer Larve bekannten Alters wurde der Darm in Ringerlösung herauspräpariert und auf einen Objektträger gebracht, ebenfalls in einen Tropfen Ringerlösung. Die Flüssigkeit wurde dann so weit abgesogen, daß der Darm glatt auf die Fläche des Objektträgers zu liegen kam. Gemessen wurde der Darm vom Oesophagus bis zur Eintrittsstelle der Malpighischen Gefäße. Das Darmstück wurde unter dem Mikroskop gezeichnet und dann mit einem Kurvenmesser gemessen. Die Körperlänge wurde am narkotisierten Tier bestimmt. Darm- und Körperlänge wurden zueinander in Beziehung gesetzt.

Die Resultate sind in Tabelle 6 zusammengefaßt. Daraus ergibt sich, daß der letale Darm kürzer ist, bei 4tägigen letalen Larven ist er ungefähr das Doppelte der Körperlänge, während bei einer gleich alten Normallarve der gemessene Darmabschnitt etwa der 3fachen Körperlänge entspricht.

Vom 7. Tage an verkürzt sich der letale Darm noch mehr; dies ist aber kaum eine Folge irgendwelcher Degenerationserscheinung des letalen Darmtraktus; denn die histologische Analyse zeigt bei keinem Darmabschnitt einen vom Normalen abweichenden Aspekt.

Die zusätzliche Verkürzung des Darmtraktus ist lediglich eine Folge des Verzichtes auf Nahrungsaufnahme. Die Fütterungsversuche mit Cochenillegefärbtem Agar-Maisfutter zeigten, daß von 19 6tägigen Letallarven 16 noch deutliche Färbung des Darminhaltes aufwiesen, bei 3 Larven, die das Futter bereits verlassen hatten, war dagegen die Färbung des Darminhaltes verschwunden.

Von 21 7tägigen Larven hatten nur noch 5 Tiere schwach gefärbten Darminhalt, alle übrigen verzichteten auf Nahrungsaufnahme, vom 8. Tage an zeigten sich in keinem Darm irgendwelche Spuren gefärbten Darminhaltes. Der Darm ist dann ganz leer und die Verkürzung des Darmes ist lediglich auf die starke Kontraktion der Darmwandung zurückzuführen. Ein Großteil der letalen Larven verläßt mit 7 Tagen den Nahrungsbrei oder liegt bewegungslos auf der Oberfläche des Futters, ohne Nahrung aufzunehmen. Auch dieses Verhalten der Dauerlarven erinnert wiederum an die verpuppungsreifen Normallarven, die vor der Verpuppung ebenfalls das Futter verlassen und keine Nahrung mehr zu sich nehmen.

Tabelle 6. *Verhältnis Körperlänge zu Darmlänge bei lgl- und normalen Larven.*

Alter	Verhältnis Körperlänge zu Darmlänge
4 Tage normal	1:2,8
4 Tage letal	1:1,9
3 Tage letal	1:2,1
6 Tage letal	1:2,3
7 Tage letal	1:1,9
8 Tage letal	1:1,9
9 Tage letal	1:1,8

2. Untersuchungen am Vorderdarm.

Der Vorderdarm einer *Drosophila*-Larve gliedert sich in folgende Abschnitte: Atrium, Pharynx, Oesophagus und Rüssel des Proventrikels.

Ich untersuchte hauptsächlich den hinteren Bereich des Vorderdarmes, die Übergangsstelle zwischen Vorder- und Mitteldarm und vor allem die Region des Proventrikels.

Am Aufbau des Proventrikels beteiligen sich 3 Schichten, wobei nur die beiden inneren Epithelien dem Vorderdarm angehören. Die äußere Proventrikelwand dagegen ist entodermalen Ursprungs und ist deshalb dem Mitteldarm zuzurechnen (Abb. 14).

Die innerste Schicht des Proventrikels stellt die Fortsetzung des Oesophagus dar. Diese Schicht schlägt am distalen Ende des Proventrikels um und bildet die 2. Schicht, die Zone der hellen Zellen. Der Name weist auf die charakteristische Ausbildung dieser ektodermalen Zellen hin. Das Epithel dieser Schicht ist stark vakuolisiert. Diese Vakuolen sind im fixierten Präparat von feinen Plasmafäden durchzogen und in diese eingeschlossen sind längliche, stark färbbare Kerne.

An der Grenze zwischen ektodermalem und entodermalem Anteil finden wir am proximalen Ende des Proventrikels den Imaginalring des Vorderdarmes (abgekürzt: vorderer Imaginalring), der erstmals 1887 von KOVALEWSKY beschrieben wurde. Die Kerne dieses Imaginalringes sind klein und haben den gleichen Aspekt wie die Kerne des Speicheldrüsenimaginalringes. Auch in diesem

Fall sind wegen der Kleinheit der Zellen genaue cytologische Untersuchungen schwierig. Das Plasma dieser Zellengruppe ist stark eosinophil, so daß sich der Imaginalring deutlich von der Zone der hellen Zellen abhebt. Die Zellen des Imaginalringes werden schon in früher Larvenzeit angelegt (Marlier 1940).

Die äußere Proventrikelwand, die ich trotz ihrer anderen Herkunft an dieser Stelle beschreibe, besteht aus kubischen Zellen mit großen, stark färbbaren Kernen. Sie sind wie die Speicheldrüsenkerne polytän und zeigen ebenfalls die Bandstruktur des Chromatins. Am oralen Abschnitt sind die Zellen dieser entodermalen Bildung vakuolisiert.

a) Zur Metamorphose des Vorderdarmes. Die Vorgänge der Metamorphose des Vorderdarmes seien hier kurz zusammengefaßt, da sie für das Verständnis der Transplantationsexperimente unerläßlich sind. Die Angaben stammen hauptsächlich aus den Arbeiten Robertsons (1936) und Marliers (1940).

In einer 3stündigen Vorpuppe verkürzt sich der Oesophagus, die eingestülpte Partie des Proventrikels wird dabei mitgezogen. Die Muskulatur wird phagozytiert. Der Imaginalring wächst nach vorn aus und stößt die larvalen Zellen in die Leibeshöhle, dort werden die Zellen wahrscheinlich von Phagozyten aufgenommen. In einer 10stündigen Vorpuppe ist das larvale Epithel durch den auswachsenden Imaginalring vollständig ersetzt und die imaginale Muskulatur des Vorderdarmes beginnt sich zu differenzieren.

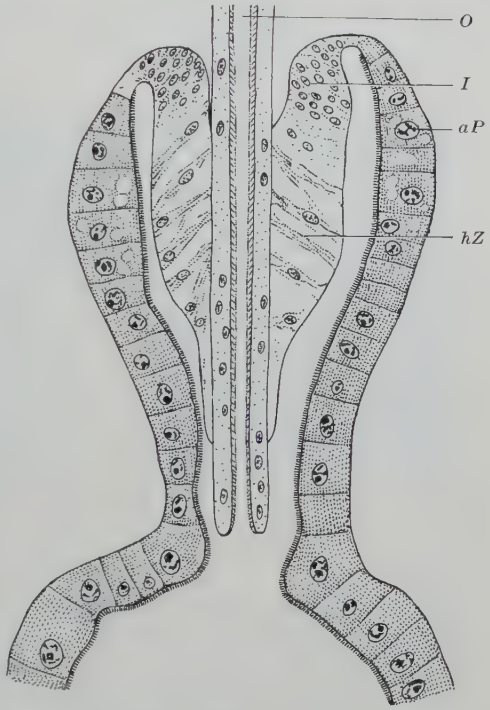


Abb. 14. Schnitt durch den Proventrikel einer 96stündigen Normallarve. *O* Oesophagus; *aP* äußere Proventrikelwand; *hZ* Zone der hellen Zellen. *I* Imaginalring. Vergr. 320mal.

Der vordere Imaginalring bildet den Kropf und den adulten Proventrikel. Diese Bildungspotenzen des Imaginalringes können im Transplantationsexperiment, wie dies im nächsten Abschnitt besprochen wird, nachgewiesen werden.

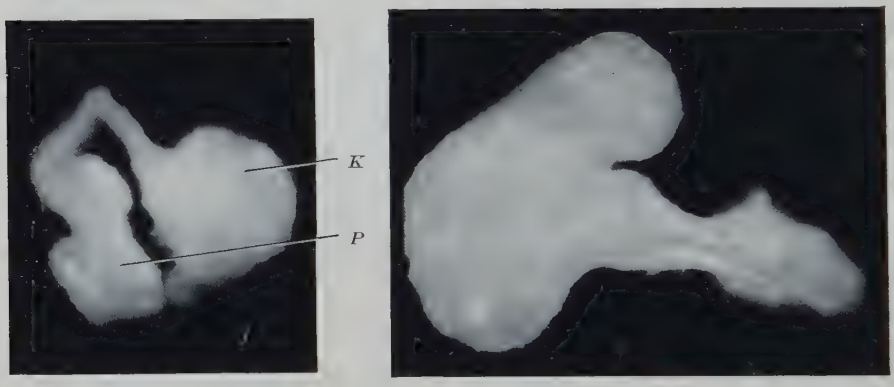
Der Kropf ist bei *Drosophila* eine imaginale Bildung, bei anderen Dipteren *(Calliphora)* findet man dieses Organ bereits in der Larve (Pérez 1910). In einer 14stündigen Puppe entsteht am Oesophagus eine kleine Aussackung, diese zieht sich ventralwärts; in einer 27stündigen Puppe hat sie eine Länge von 100 μ und ist bereits differenziert in einen schmalen Ausführgang, der in den Proventrikel mündet und in einen sackförmigen Teil, den späteren Kropf. Der Kropf erreicht das Abdomen in der 48stündigen Puppe. Die Muskulatur des Kropfes bildet sich aus den Myoblasten des Vorderdarmes.

Der Proventrikel der Imago ist histologisch ähnlich differenziert wie derjenige der Larve. Die Zellen sind aber viel kleiner. Die Vakuolen in der Zone

der hellen Zellen sind auf den hinteren Abschnitt beschränkt, während im vorderen Teil ein kompaktes Gewebe zu finden ist.

b) Experimente zur Bestimmung der Potenzen des Imaginalringes. Zur Durchführung dieser Experimente wurde die äußere Proventrikelwand vom Rüssel abpräpariert, so daß neben dem Imaginalring auch die Zone der hellen Zellen mittransplantiert wurde.

Transplantation des normalen Imaginalringes. Von 32 erfolgreichen Experimenten wurden 12 Implantate aus der Wirtsimago herauspräpariert. Der große Ausfall an Transplantaten kann zum Teil mit der Art der Präparierung des Proventrikels erklärt werden. Möglicherweise wird bei der Abtrennung der Pro-



a b

Abb. 15 a u. b. Transplantate normaler Imaginalringe des Vorderdarmes. a Differenzierung in Kropf und imaginalem Proventrikel. b Undifferenziertes Transplantat. *K* Kropf; *P* imaginaler Proventrikel. Vergr. 55mal.

ventrikelwand der vordere Imaginalring geschädigt, so daß er oft nicht funktionsfähig ist und dadurch eine Weiterentwicklung verunmöglicht wird. Andererseits beobachtete ich, daß das Transplantat vom Wirt sehr oft herausgepreßt wird.

Die gefundenen Transplantate haben ganz verschiedene Form. Im günstigsten Fall erhalten wir solche, die deutlich den muskulösen Kropf und den Proventrikel zeigen (Abb. 15a). Die pulsierenden Bewegungen des Proventrikel können in den meisten Transplantaten beobachtet werden. Die beiden Ausführgänge vereinigen sich, genau wie im Normalfall, während der Puppenruhe. Im ganzen wurden 3 solche 2teiligen Transplantate gefunden.

In den übrigen Fällen wies das Transplantat einfache, blasige Ausbildung auf (Abb. 15b). An Hand der Form und auch auf Grund der histologischen Analyse ist es schwierig zu bestimmen, ob es sich um einen larvalen oder imaginalen Proventrikel handelt. Immerhin findet sich in einem solchen Transplantat ein aufgelockertes Gewebe mit wenig Kernen. Es entspricht dies der Zone der hellen Zellen. Da aber sowohl im larvalen als auch im imaginalen Gewebe die Zone der hellen Zellen mehr oder weniger gleichen Bau aufweisen, ist es unmöglich zu entscheiden, ob das Transplantat sich in imaginaler Richtung weiterentwickelt hat, da ja die larvalen hellen Zellen mittransplantiert wurden. Die 2teiligen Transplantate mit ihrer Gliederung in Proventrikel und in Kropf machen die Entscheidung klar, da der Kropf eine ausgesprochen imaginale Bildung ist.

Transplantation des letalen Imaginalringes. Der vordere Imaginalring von etwa 100stündigen letalen Larven wurde in normale Wirte (*lgl 6 y*) transplantiert. Unter 30 geschlüpften Fliegen fand ich in keiner ein Implantat, das sich weiter entwickelt hatte. In den meisten Fällen wurden lediglich braune Reste, die vom implantierten Gewebe stammten, gefunden. Der letale Imaginalring des Vorderdarmes vermag sich demnach nicht in imaginaler Richtung zu differenzieren, seine Entwicklungspotenzen sind vollständig blockiert, trotzdem die histologische Analyse keine Schädigung des Imaginalringgewebes aufgezeigt hatte. Der vordere letale Imaginalring verhält sich demnach wie der letale Imaginalring der Speicheldrüse und wie die Keimzellen der Gonaden.

3. Untersuchungen am Mitteldarm.

Die Teile des Mitteldarmes sind: Äußere Wand des Proventrikels; der Magen mit den 4 Magenblindsäcken; die enge Passage des eigentlichen Mitteldarmes, der charakteristische Windungen aufweist, wie sie STRASBURGER (1932) beschrieben hat.

Zwischen den großen Mitteldarmzellen mit polytänen Kernen liegen, auf allen Schnitten zu beobachten, einzeln oder gruppenweise Zellen mit bedeutend kleineren Kernen, es sind dies die imaginalen Zellnester, die diffus über das ganze Mitteldarmgewebe verteilt sind. Diese Zellen übernehmen die Aufgabe der Bildung des imaginalen Mitteldarmes. Sie werden auch von PEREZ (1910) beschrieben, und zwar fand er sie bereits in sehr jungen Stadien von *Calliphora*. STRASBURGER bezeichnet sie als Regenerationszellen und vermutet, daß diese Zellen dem Ersatz der durch Sekretion verbrauchten und in das Lumen abgestoßenen Mitteldarmzellen dienen.

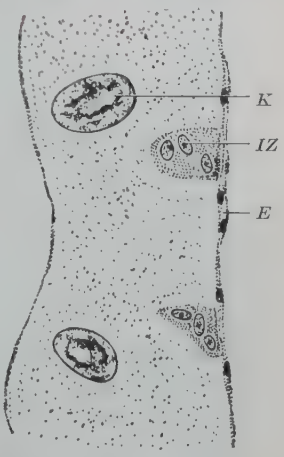


Abb. 16. Schnitt durch den Mitteldarm einer verpuppungsreifen Normallarve. *K* Kern einer Mitteldarmzelle; *IZ* imaginale Zellnester; *E* Darmepithel. Vergr. 320mal.

An der Bildung dieser Nester können ein oder mehrere Kerne beteiligt sein. Sie liegen stets der Basalmembran an (Abb. 16). Nach KOVALEWSKY (1887) finden sich diese Zellgruppen bereits in 1tägigen *Drosophila*-Larven. Für die Schilderung des Metamorphoseablaufes benütze ich wiederum die Angaben ROBERTSONS (1936). Dieser Autor beschreibt das Ausbreiten der Imaginalnester etwa 2 Std nach der Bildung des Puparium. Während der Ausbreitung der Imaginalzellen verkürzt sich der Darm, nach 3 Std haben die Imaginalzellen die Bildung eines Darmrohres vollendet, das die larvalen Zellen umgibt. Die Epithelien des eigentlichen Mitteldarmes, der Magenblindsäcke und der entodermale Anteil des Proventrikels werden in das Innere des Darmlumens abgestoßen und bilden dort mit den kleineren Zellen, die aus den Histoblasten stammen, den sog. Gelbkörper (Abb. 17). Dieser Gelbkörper verbleibt als rundliche Zellmasse im Darmlumen bis zur Zeit des Schlüpfens und wird dann als Mekonium aus dem Darm entfernt.

Die Untersuchungen am letalen Mitteldarm zeigen zunächst keine Abweichungen vom Normalverhalten. Die Imaginalnester sind ebenfalls vorhanden

(Abb. 16) und zeigen auch in älteren Larvenstadien keine histologische oder cytologische Veränderungen.

Schnitte durch die Mitteldarmregion einer Pseudopuppe ließen überraschenderweise ebenfalls die Bildung eines Gelbkörpers erkennen. Die histologische Analyse dieser Bildung zeigt allerdings nicht das gleiche Bild wie im Normalfall. Vor allem fällt der geringe Anteil an larvalem Zellmaterial auf, dagegen durchsetzen die kleineren Zellen, die aus den Histoblasten stammen, den Gelbkörper stark und dominieren in dieser letalen Bildung gegenüber den larvalen Zellen. Auch fehlt dem letalen Gelbkörper der charakteristische gekammerte Aufbau. Vielmehr finden wir in diesem Fall nur ein wirres Durcheinander larvaler und imaginaler Zellen (Abb. 18).

Die Verhältnisse am Mitteldarm zeigen uns, daß die letalen Imaginalanlagen wohl imstande sind, sich weiterzuentwickeln, das larvale Gewebe wird jedoch

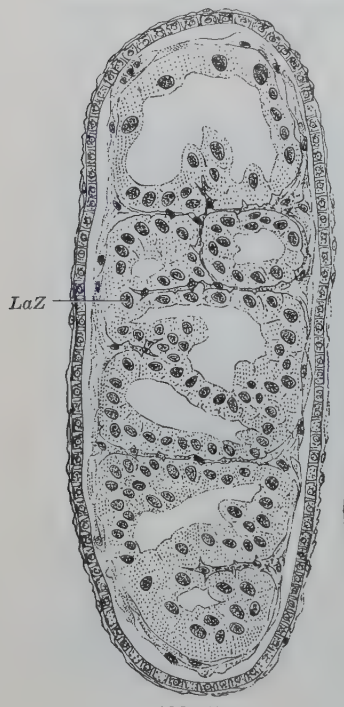


Abb. 17.

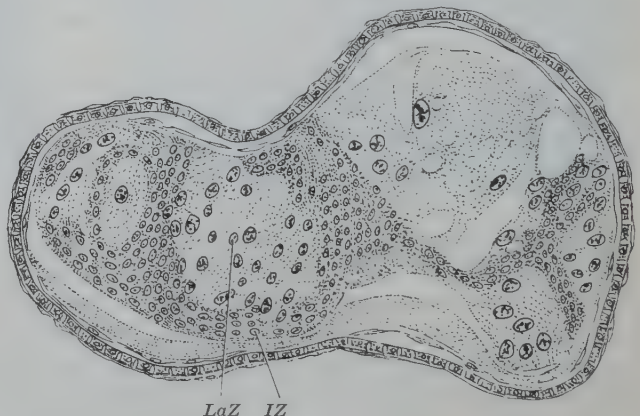


Abb. 18.

Abb. 17. Schnitt durch den Gelbkörper einer normalen Puppe. *LaZ* Abgestoßene Zellen des larvalen Mitteldarmes. Vergr. 320mal.

Abb. 18. Schnitt durch den Gelbkörper einer *lgl*/*lgl*-Pseudopuppe. *LaZ* Larvale Zellen; *IZ* imaginale Zellen. Vergr. 320mal.

nicht vollständig abgestoßen. Es bildet sich deshalb ein vom Normalen stark abweichender Gelbkörper, besonders in bezug auf die Gliederung und auf den Anteil des larvalen Materials.

Eine experimentelle Analyse über das Verhalten dieser letalen Imaginalanlagen wurde deshalb nicht durchgeführt, weil die Bildung einer Art Gelbkörper auf Beibehaltung der Entwicklungsfähigkeit hinweist.

4. Untersuchungen am Hinterdarm.

Eine deutliche Grenze zwischen Mitteldarm und Enddarm bildet äußerlich der Pylorussphinkter, der direkt hinter der Einmündungsstelle der MALPIGHIschen Gefäße liegt. Man kann also aus praktischen Gründen den Sphinkter als

Grenze annehmen (Strasburger 1932), obschon kein Zweifel besteht, daß entwicklungsgeschichtlich die Malpighischen Gefäße aus dem Proktodaeum hervorgehen.

Die Zellen des Enddarmes sind annähernd kubisch und entsprechen in der Größe denjenigen des Mitteldarmes. Eine starke Ringmuskulatur umgibt den Darm spangenartig, liegt jedoch außerhalb der Basalmembran.

Unmittelbar hinter der Eintrittsstelle der Malpighischen Gefäße liegt der Imaginalring des Hinterdarmes (hinterer Imaginalring). Dieser Imaginalring wird bereits in frühen Larvenstadien gebildet (Marlier 1940). Er bleibt während des ganzen Larvenlebens klein und wächst erst während des Vorpuppenstadiums stark. Seine Kerne sind wiederum klein und linsen- förmig, wie bei allen bisher beschriebenen Imaginalzellgruppen.

Der ektodermale Enddarm ist mit einer chitinigen Intima ausgekleidet.

a) Zur Metamorphose des Hinterdarmes. Der Hinterdarm bleibt unverändert bis zur 4. Std der Vorpuppe, verkürzt sich dann bis das Maximum in der 21stündigen Puppe erreicht ist. An der Bildung des imaginalen Darmepithels beteiligen sich der hintere Darmimaginalring und die Imaginalscheibe des hintersten Segmentes (Robertson 1936). In einer 36stündigen Puppe ist das larvale Epithel vollständig durch imaginales ersetzt. Nach Marlier (1940) dagegen verschwindet der rektale Teil des larvalen Enddarmes nicht, sondern nach seinen Beobachtungen ginge das imaginale Rektum aus Zellteilungen der larvalen Darmzellen hervor. Dieses neue imaginale Gewebe tritt dann nach vorn in Kontakt mit dem auswachsenden Imaginalring, nach hinten mit dem Zylinder der Hypodermis.

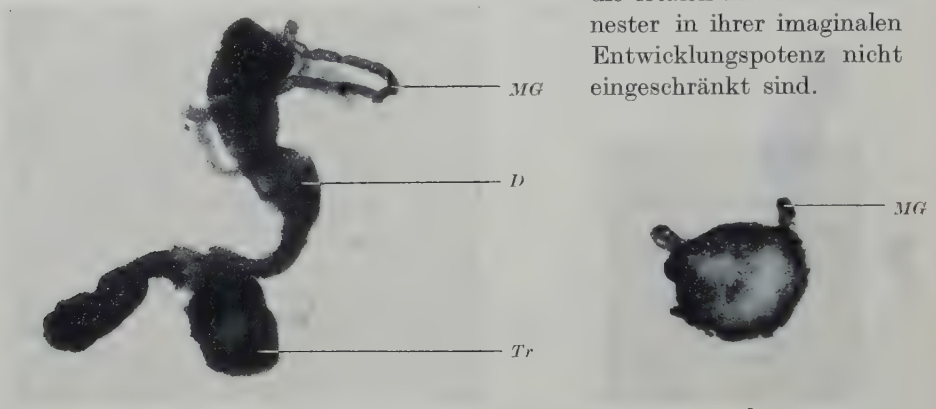
Die Rektalampullen, eine ausschließlich imaginale Bildung, erscheinen 21 Std nach der Verpuppung als Erweiterung des Darmes, zunächst sichtbar als zwei dem Darm anliegende Zellmassen, die sich dann später zu den 4 Rektalampullen differenzieren.

Die Muskulatur des Enddarmes wird durch Phagozyten abgetragen und ist nach 36 Std vollständig verschwunden. In einer 86stündigen Puppe dagegen ist die imaginale Muskulatur wieder vollständig aufgebaut. Im Unterschied zur larvalen Muskulatur verlaufen die Muskelfasern nicht mehr basal im Epithel, sondern außerhalb der Epithelschicht.

b) Transplantationsexperimente mit normalen hinteren Imaginalringen. Im ganzen waren 30 Transplantationen erfolgreich, wobei aus 23 der Fliegen Transplantate herauspräpariert werden konnten. Die Gestalt des Implantates und die Einschlüsse in dessen Lumen variieren allerdings beträchtlich, je nach dem Material, das mit dem Imaginalring noch mittransplantiert wurde. Wurde z. B. auch ein größeres Stück Mitteldarm mittransplantiert, so fand ich im Innern des Lumens eine Gelbkörperbildung, ein Zeichen dafür, daß sich die imaginalen Zellnester des Mitteldarmes in imaginaler Richtung weiterentwickelt haben. Weiterhin finden wir am regenerierten Enddarm auch noch Teile der Malpighischen Gefäße, die sehr oft mit Oxalatkristallen gefüllt sind. Wurde neben dem Imaginalring auch ein längeres Stück Enddarm implantiert, so finden sich im Innern des Transplantates auch die braunen Reste der chitinigen Intima, ähnlich wie bei den Speicheldrüsen. Die Transplantate liegen meist frei im Abdomen.

Nur in einem einzigen Fall konnte ich ein Anhaften am imaginalen Darm mit Hilfe feiner Tracheen feststellen (Abb. 19a). Abb. 19a und b zeigen die verschiedenen Formen der Transplantate letaler und normaler Imaginalringe.

c) Transplantation letaler hinterer Imaginalringe. Abb. 19b zeigt das Beispiel einer erfolgreichen Implantation eines letalen hinteren Imaginalringes. Bei insgesamt 25 Transplantationen wurde in 13 Fällen der Erfolg der Operation nachgewiesen. Die Transplantate zeigen die gleiche Mannigfaltigkeit in ihrer Ausbildung, wie im Fall der Transplantation normaler Imaginalringe. Wurde dem Imaginalring auch genügend Mitteldarmmaterial mitgegeben, so ergab dies ebenfalls Bildung eines Gelbkörpers. Dies stützt unsere Folgerung, daß die letalen Mitteldarmzellnester in ihrer imaginalen Entwicklungspotenz nicht eingeschränkt sind.



a b

Abb. 19 a u. b. Resultat der Transplantation eines normalen und eines *lgl/lgl*-Hinterdarm-Imaginalringes. a Transplantat eines normalen Hinterdarm-Imaginalringes. Transplantat mit dem Hinterdarm des Wirtes verwachsen. *MG* MALPIGHIsche Gefäße des Wirtes; *D* Darm des Wirtes; *Tr* Transplantat. b Transplantat eines *lgl/lgl*-Hinterdarm-Imaginalringes. *MG* MALPIGHIsche Gefäße des Transplantates. Vergr. 34mal.

Abschließend kann über die Untersuchungen am Darmsystem letaler Larven folgendes ausgesagt werden: Der Letalfaktor *lgl* beeinflußt sichtbar weder das histologische Bild des larvalen Anteils noch des imaginalen Anteils des Darmtraktus. Da die älteren Dauerlarven keine Nahrung mehr aufnehmen, werden die Funktionen des Darmes eingestellt, es kommt auch zu einer charakteristischen Verkürzung des Darmes. Die Transplantationsergebnisse zeigen dagegen, daß der vordere Imaginalring in seiner imaginalen Differenzierungspotenz vollständig geschädigt ist, während die imaginalen Zellnester des Mitteldarmes und der Imaginalring des letalen Hinterdarmes zu normaler Entwicklungsleistung befähigt sind, und außerhalb des Manifestationsbereiches des Letalfaktors *lgl* liegen. Die Resultate der experimentellen Analyse zeigen uns, daß der *lgl/lgl*-Darm entwicklungsphysiologisch verschiedene Systeme in sich schließt.

III. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Imaginalscheiben.

Bei der Präparation einer letalen 96stündigen Larve fällt vor allem die äußerst starke Degeneration der Imaginalscheiben auf. HADORN wies schon 1938 auf die starke Unterentwicklung der Imaginalscheiben und auf deren histologische und zelluläre Degeneration

hin. Die großen Imaginalscheiben sind jene Organe, die im letalen Larvenkörper weitaus am stärksten geschädigt sind. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß diese Imaginalanlagen in einer Pseudopuppe nicht zu normaler Leistung befähigt sind.

Die Imaginalscheiben wurden nicht so eingehend untersucht wie die Speicheldrüsen, da hierzu vor allem embryologische Probleme erörtert werden müßten. Auf eine Beschreibung der Anatomie und der Entwicklung normaler Imaginalscheiben möchte ich nicht im Detail eingehen, sondern auf die ausführlichen Arbeiten von CHEN (1928), AUERBACH (1936), WADDINGTON (1940) und MARLIER (1942) verweisen. T. Y. CHEN beschreibt neben der normalen Entwicklung der Imaginalscheiben auch diejenige einer *lgl*-ähnlichen Mutante *l(3)blo-l (bloated larvae)*.

Die Imaginalscheiben sind Bildungen der Hypodermis. Embryonal erfolgt die Anlage der einzelnen Scheiben nicht gleichzeitig. Die Angaben über den Zeitpunkt der Bildung gehen bei den einzelnen Autoren stark auseinander. Der Ablauf der Entwicklung ist für die einzelnen Scheiben prinzipiell der gleiche. Deshalb diene uns die Beschreibung der Bildungs- und Metamorphosevorgänge einer Beinscheibe als Modell.

Die erste Anlage wird schon im Embryo beobachtet als eine vom Ektoderm abstammende Zellmasse. Schon in frühen Stadien unterscheiden sich die Zellen der Imaginalscheiben durch ihre Kleinheit deutlich von denjenigen der Hypodermis. Die Invagination des Zellmaterials in die sog. Peripodalmembran beginnt im 1. Larvenstadium. Am Ende des 2. und während des 3. Larvenstadiums machen die Imaginalscheiben 3 wichtige Veränderungen durch (AUERBACH 1936): a) Bildung eines Lumens im Innern. b) Bildung eines Stieles, der die Imaginalscheibe mit der Hypodermis verbindet. c) Differenzierung der Scheibe in die eigentliche Imaginalscheibe und den Peripodalsack.

Die beiden ersten Veränderungen hängen mit der Verlagerung der Scheibe in die Körperhöhle zusammen. Die Form und das Relief der Imaginalscheibe einer verpuppungsreifen Larve sind sehr charakteristisch (Abb. 20). Der periphere Teil der Imaginalscheibe bildet während der Puppenruhe die imaginale Hypodermis. Die eigentliche Imaginalanlage, die während des Larvenlebens nur einen kleinen Teil der Scheibe einnimmt, wächst dann in der Vorpuppe stark heran, gleichzeitig verkürzt und erweitert sich der Stiel, so daß die Anlage nahe an die larvale Hypodermis heranrückt. Während des nächsten Entwicklungsschrittes kommt es zur Ausstülpung der Imaginalscheibe. Dieser Vorgang geht in den ersten 10 Std der Vorpuppenzeit vor sich. Die ersten imaginalen Anhänge, die ausgebildet werden, sind die Beine, und zwar etwa 6 Std nach der Puppariumbildung. Nach 12 Std erscheinen die Halteren, während die Differenzierung der Flügel erst nach etwa 48 Std vorläufig abgeschlossen ist (Angaben nach der Zeittabelle von ROBERTSON 1936).

1. Morphologische Unterschiede zwischen normalen und letalen Imaginalscheiben.

An Hand von Untersuchungen an der dorsalen mesothorakalen Scheibe („Flügelscheibe") soll versucht werden, die charakteristischen Unterschiede zwischen letalen und normalen Imaginalscheiben darzustellen.

Die „Flügelscheibe" einer verpuppungsreifen Normallarve hat annähernd Dreieckform, wobei der kürzere Durchmesser beim Weibchen $422{,}0 \pm 8{,}2\,\mu$

Tabelle 7. *Länge und Breite normaler und letaler Imaginalscheiben in μ.* $n = 30$; l = längerer Durchmesser; k = kürzerer Durchmesser.

Genotyp	Alter in Stunden	Dorsal mesothorakal		Dorsal metathorakal	
		♀	♂	♀	♂
		M ± m	M ± m	M ± m	M ± m
normal *lgl/Cy*	96	*l* 651,4±12,4 *k* 422,0± 8,2	625,9±16,3 405,0± 9,6	392,0± 9,5 196,0± 8,3	382,0±10,2 192,0± 5,6
letal *lgl/lgl*	96	*l* 281,0± 8,6 *k* 242,0± 7,3	278,0± 7,9 243,0± 9,1	212,0± 6,8 201,0± 8,1	201,0± 7,3 188,0± 6,3
letal *lgl/lgl*	120	*l* 353,0±13,9 *k* 256,0±11,5	310,0±10,9 218,0±11,6	263,0± 5,4 191,0± 4,8	239,0±10,7 156,0± 6,9
letal *lgl/lgl*	144	*l* 379,0±15,7 *k* 265,0±12,3	283,0±13,7 263,0±13,5	278,0±13,7 198,0± 5,8	243,0±12,1 173,0± 7,9
letal *lgl/lgl*	168	*l* 423,0±13,9 *k* 289,0±16,2	401,0±21,4 383,0±13,8	298,0±20,7 203,0±11,0	268,0±15,6 187,0±13,0
letal *lgl/lgl*	192	*l* 460,0±17,8 *k* 324,0±22,3	449,0±14,9 381,0±20,4	321,0±19,6 244,0±18,9	351,0±17,3 242,0±16,2
letal *lgl/lgl*	216	*l* 502,0±17,7 *k* 349,0±17,8	462,0±16,2 339,0±14,2	359,0±23,7 253,0±11,3	355,0±15,8 341,0±16,2
letal *lgl/lgl*	240	*l* 561,0±16,5 *k* 390,0±17,8	483,0±20,1 355,0±21,8	398,0±13,7 282,0±16,1	380,0±16,6 238,0±19,8

und der längere Durchmesser 651,4 ± 12,0 μ mißt. Die letale Flügelscheibe dagegen ist mehr oder weniger viereckig, mit einem kürzeren Durchmesser von 268,0 ± 7,3 μ und einem längeren von 281,0 ± 8,6 μ (Tabelle 7).

Bei älteren Dauerlarven ist die Identifizierung der einzelnen Scheiben oft sehr schwierig, da sie sich zu großen amorphen Zellmassen vereinigen können. Besonders häufig kommt diese Verklumpung zwischen der dorsalen mesothorakalen und metathorakalen Scheibe vor. In der Tabelle 7 wurden allerdings diese Fälle nicht berücksichtigt, sondern sämtliche Maße wurden nur an getrennten Scheiben genommen. Bei 8tägigen Larven z. B. fand ich in 20 präparierten Larven 8 mit verwachsenen Imaginalscheiben. Die Größe dieser Scheiben variierte zwischen 650 und 800 μ, in den einfachen Fällen wies die größte Scheibe eine Länge von 561 μ auf.

GLOOR (1945) erhält für die dorsale mesothorakale Scheibe annähernd die gleichen Werte wie die in meiner Tabelle angeführten. Im Verlauf der Weiterentwicklung der Letallarve nimmt auch die Flügelimaginalscheibe an Größe ständig zu, doch kann sie in keinem Fall die normale Größe und Gestalt erreichen.

Die letale Imaginalscheibe weicht aber nicht nur in der Gestalt und in der Größe, sondern auch noch in anderen Merkmalen von der Normalscheibe ab.

Auf dem Peripodalsack jeder Imaginalscheibe einer verpuppungsreifen, normalen Larve zeichnet sich ein charakteristisches Relief ab, entsprechend der Faltung der darin sich entwickelnden Organanlagen. An der letalen Imaginalscheibe können nie derartige Bildungen beobachtet werden. In Abb. 20 werden verschiedene Imaginalscheiben normaler und letaler Individuen vergleichend

dargestellt, wobei die normalen Scheiben aus verpuppungsreifen 96stündigen Larven, die letalen aus überlebenden Dauerlarven stammen. Die Verschiedenheit der Form und das Fehlen jeglicher Reliefbildung bei den *lgl/lgl*-Scheiben

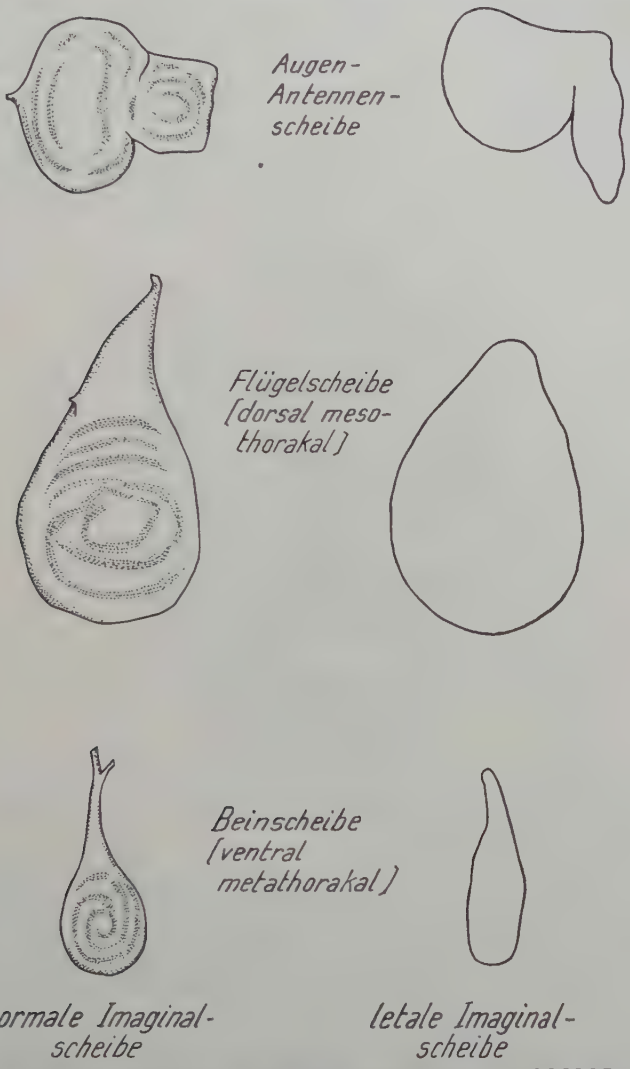


Abb. 20. Vergleich der Form, der Größe und des Reliefs einiger normaler und *lgl/lgl*-Imaginalscheiben. Vergr. 55mal.

kommt dabei deutlich zum Ausdruck. Dagegen ist die Größe nicht direkt vergleichbar, da es sich bei den Letalen um den Zustand handelt, bei dem die Scheiben stark aufgebläht sind.

Auch der histologische Aufbau ergibt ein vollständig anderes Bild als im Normalfall. Auffallend ist das Vorkommen zweier Kerntypen, die bereits T. Y. Chen (1928) für *l(3)blo-l* kurz beschrieb. Peripher finden sich Kerne, die durch

ihre Größe auffallen und oftmals gruppenweise stehen. Sie werden von den kleineren eigentlichen Imaginalzellen umgeben. Diese größeren, peripheren Kerne zeigen pyknotische Ballung des Chromatinmaterials, was von CHEN allerdings nicht erwähnt wird (Abb. 21). Möglicherweise treten diese Pyknosen erst in späteren Larvenstadien auf. Diese peripheren Zellen deutet CHEN als Abkömmlinge der Hypodermis, die sich nicht differenzieren konnten. In den Kernen der Imaginalzellen ist das Chromatin fein verteilt und zeigt keinesfalls Pyknoseerscheinungen.

Die Größenzunahme der Imaginalscheiben, wie sie sich aus Tabelle 7 ergibt, beruht auf: a) Einlagerung von larvalem Hypodermismaterial, dem aber die

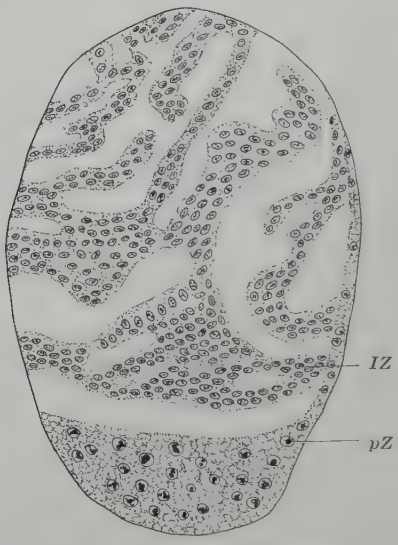


Abb. 21. Schnitt durch die mesothorakale dorsale Imaginalscheibe einer 11tägigen Letallarve. *IZ* Imaginale Zellen; *pZ* periphere Zellen mit Pyknosen. Vergr. 320mal.

Fähigkeit zur Differenzierung in Imaginalzellen abgeht. b) Mitotischen Teilungen der Imaginalzellen. Allerdings gelang es mir nicht, in den Zellen Mitosen zu beobachten; doch fällt die starke Vermehrung der Zellen im Verlauf der Entwicklung auf. c) Starker Vakuolisierung des Protoplasmas (Abb. 21), die wohl zur Hauptsache an der Vergrößerung der Imaginalscheibe beteiligt ist.

Die Transplantationsergebnisse zeigten, daß die Imaginalscheiben zu keiner Weiterentwicklung mehr befähigt sind. In keinem der 30 operierten Tiere konnten die implantierten letalen Imaginalscheiben wieder gefunden werden, so daß ohne Einschränkung angenommen werden kann, daß der Letalfaktor *lgl* die Imaginalscheiben irreparabel schädigt.

Die Experimente von HADORN und NEEL (1937) zeigten auch, daß eine Implantation normaler Ringdrüsen die Entwicklungsleistung der letalen Imaginalscheiben nicht zu beeinflussen vermag. Es scheint deshalb, daß der Letalfaktor die Imaginalscheiben direkt, d. h. primär schädigt.

2. Die Schäden an den verschiedenen Imaginalscheibenkomplexen.

a) Der Kopfkomplex. Dieser besteht aus Labial- und Augen-Antennenscheibe. Abb. 20 zeigt die Unterschiede im Bau und im Relief normaler und letaler Imaginalscheiben. Die letalen Labialscheiben unterscheiden sich weder in der Größe noch in der Form auffallend von den normalen Scheiben. Das histologische Bild dagegen ergibt große Abweichungen vom Normalverhalten. Während die Normalscheibe die Form eines Säckchens mit starker Wandung hat, wuchert bei den letalen Scheiben das Gewebe derart, daß die Scheibe gänzlich von den Imaginalzellen erfüllt ist. Die Kerne erscheinen normal und zeigen nirgends Pyknosen. Sie stehen aber weniger dicht.

Die Augen-Antennenscheibe dagegen hat sowohl ihre typische Form als auch ihr Relief verloren, in manchen Fällen ist ein Unterscheiden zwischen dem Augen- und dem Antennenteil nicht möglich. Abb. 20 zeigt besonders starke Deformation des Antennenteils. Die Beziehung der Scheibe zum Gehirn ist nicht mehr deutlich. Im Normalfall liegen die Scheiben unmittelbar dem Gehirn durch eine stielartige Verbindung an, bei den Letalen dagegen ist diese Verbindung gelöst.

Im histologischen Bild ergeben sich wiederum die gleichen Abweichungen vom Normalverhalten, wie wir dies bereits für die Flügelscheiben beschrieben haben. Es finden sich auch da, neben den kleinen Imaginalzellen, die größeren peripher liegenden Kerne mit geballtem Chromatin. Auch die regelmäßige Anordnung der Zellen ist gestört, die Imaginalzellen sind regelmäßig über die ganze Scheibe verteilt.

b) Der thorakale Komplex. Die histologischen und experimentellen Untersuchungen wurden zur Hauptsache an diesen Scheiben durchgeführt. Gemessen wurden die dorsale mesothorakale und die dorsale metathorakale Scheibe, worüber Tabelle 7 Auskunft gibt.

Bei 4tägigen Letallarven ist das larvale Gehirn nur von kleinen abnormen Anhängen umgeben. Mit zunehmendem Alter werden die Imaginalscheiben immer größer und lassen sich in den nach Feulgen gefärbten Totalpräparaten gut nachweisen. Wie bereits eingangs erwähnt wurde, können einzelne Scheiben zusammenwachsen, so daß die ursprüngliche Zahl von 6 Thorakalscheiben nicht in allen Fällen nachgewiesen werden kann. In älteren Larven ist es unmöglich, den Stiel, der die Scheibe mit der Hypodermis verbindet, zu finden, er scheint zu obliterieren. Die Tracheenversorgung der Imaginalscheiben scheint normal zu sein.

Bei der ventralen Gruppe weisen sämtliche Imaginalscheiben die charakteristischen Degenerationserscheinungen auf. In der dorsalen Gruppe dagegen erscheint die prothorakale oder Humerusscheibe weder in der Form noch in der Größe vom Normalverhalten stark abzuweichen, während die meso- und metathorakalen Scheiben sich in der obenerwähnten Art abnorm entwickelt haben. Das histologische Bild ist weiter oben bereits diskutiert worden.

Die Genitalscheibe. In ihrer äußeren Form und in ihrer Größe hat sie normalen Aspekt, dagegen weist die starke Auflockerung der Imaginalzellen sowie das Vorhandensein der peripheren, pyknotischen Kerne auf die Desorganisation im Innern der Scheibe hin.

Zusammenfassend ist also festzustellen: Äußerlich zeigen die letalen Imaginalscheiben auffallende Störung der Form und des charakteristischen Reliefs. In einer 96stündigen Larve sind die Scheiben klein, sie nehmen nur einen kleinen Raum in der Umgebung des larvalen Gehirns ein (vgl. HADORN 1938). Durch Vakuolisierung und durch Einlagerung oder Vermehrung von Hypodermiszellen nimmt die Imaginalscheibe mit zunehmendem Alter an Größe ständig zu, erreicht aber keinesfalls die Ausprägung einer normalen verpuppungsreifen Imaginalscheibe, sondern verliert den charakteristischen Aufbau durch innere Desorganisation.

Im Innern der Scheibe lassen sich 2 Zelltypen unterscheiden: die Imaginalzellen mit kleinen Kernen, in denen das Chromatinmaterial fein verteilt ist, und größere, peripher liegende Zellen, deren Kerne besonders in älteren Larven pyknotisch werden. CHEN (1928) hält diese Zellen für Abkömmlinge der Hypodermis.

Die Transplantationsexperimente demonstrieren, daß die letalen Imaginalscheiben zu keiner Differenzierung mehr fähig sind. Auch eine Zugabe von Ringdrüse normaler verpuppungsreifer Larven vermag eine Umstimmung nicht mehr herbeizuführen. Der Letalfaktor *lgl* schädigt irreparabel und primär die Ausbildung und die Differenzierungspotenzen der Imaginalscheiben.

IV. Zusammenfassende Diskussion über die Wirkung des Letalfaktors *lgl*.

Ein Charakteristikum des Dipterenlarvenkörpers ist das „Nebeneinander" zweier Entwicklungssysteme. Wir finden darin einerseits das larvale Gewebe, andererseits aber auch die prospektiven Anlagen für die imaginalen Organe; diese werden schon frühzeitig angelegt, und zwar entweder als Zellnester (z. B. Mitteldarm), oder als Imaginalringe (z. B. Speicheldrüse) oder als Imaginalscheiben (z. B. Augen-Antennenscheibe). In der Vorpuppe wird ein großer Teil des larvalen Gewebes abgebaut, histolysiert und durch das imaginale Gewebe, das aus den verschiedenen Imaginalanlagen proliferiert, ersetzt.

Einem Letalfaktor, der wie *lgl* tiefgreifend schädigend in das Entwicklungsgeschehen eines Individuums eingreift, stehen demnach die verschiedensten Möglichkeiten der Gewebebeeinflussung offen. Die Arbeiten HADORNS, GLOORS und die vorliegende Untersuchung zeigen, daß die verschiedensten entwicklungsphysiologischen Prozesse von den Auswirkungen des Letalfaktors betroffen werden können, sowohl die larvalen als auch die imaginalen. Diese Möglichkeiten des Eingreifens führen zu einem vielfältigen, charakteristischen Schädigungsmuster, (HADORN 1945, 1948). Die Analyse eines solchen Schädigungsmusters erlaubt uns Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus eines Letalfaktors zu ziehen.

1. Welche Organe oder Organteile werden vom Faktor lgl betroffen?

Der Faktor *lgl* bewirkt ein charakteristisches, pleiotropes Schädigungsmuster, indem die verschiedensten Organe entweder in ihrem Wachstum oder in ihrer histologischen Struktur oder gar in ihrer Entwicklungsleistung beeinflußt werden. Für die endgültige Entscheidung über das Entwicklungsschicksal ist die

Schädigung der Imaginalanlagen von Bedeutung (Schädigung der Imaginalscheiben, Keimdrüsen, Imaginalringe der Speicheldrüsen und des Vorderdarmes), während der Schädigung des larvalen Anteils nicht diese Bedeutung zukommt. Andererseits ist gerade das Verhalten des larvalen Anteils für die Analyse sehr wichtig (Drüsenkörper der Speicheldrüse, der larvale Fettkörper, die larvale Hypodermis). Der Grad der Auswirkung zeigt große Unterschiede. Hadorn (1945) unterscheidet schematisierend 3 Stufen der organ- und zellspezifischen Reaktion auf den *lgl*-Faktor: a) Systeme, die außerhalb des Manifestationsbereiches des Faktors liegen (larvales Integument, Tracheensystem, die somatischen Gonadenzellen, Darmtraktus mit den Malpighischen Gefäßen und wahrscheinlich auch das Nervensystem). b) Systeme, bei denen bei unveränderter Zellstruktur eine Entwicklungs- und Wachstumshemmung festzustellen sind (Ringdrüse, Speicheldrüse, Fettkörper). c) Systeme mit fortschreitender Zell- und Gewebsdegeneration (Imaginalscheiben und die männlichen Keimzellen).

Diese Dreiteilung der Schädigungsstufen beruht auf morphologisch erfaßbaren Unterschieden, dagegen kommt der Faktor „Entwicklungspotenz" der einzelnen Organe nicht zum Ausdruck. Ich werde versuchen, diesen Faktor in einem späteren Kapitel zur Charakterisierung des *lgl*-Typus beizuziehen.

2. *Wann greift der Letalfaktor in das Entwicklungsgeschehen ein?*

Liegt eine Phasenspezifität vor? Eine strenge Phasenspezifität ist von vornherein kaum anzunehmen, da sowohl das larvale als auch das undifferenzierte Gewebe der Imaginalanlagen durch den Letalfaktor beeinflußt wird. Die Frage über den Zeitpunkt des Einwirkens des Letalfaktors ist aber von Bedeutung für die Abklärung des Problems, ob primäre oder sekundäre Pleiotropie vorliegt.

Das Experiment läßt nur die Beantwortung der Frage zu, ob eine Schädigung eines Organs vorliegt; die Entscheidung aber, wann der Erbfaktor in das Entwicklungsgeschehen eingreift, wird dagegen auf Grund von Transplantationen kaum getroffen werden können; denn es müßte bereits das embryonale Anlagematerial einer experimentellen Prüfung unterzogen werden.

In 2 Fällen aber kann der Zeitpunkt des Eingreifens auf indirektem Wege annähernd bestimmt werden. Für den Fall der Speicheldrüse konnte ich an Hand der Kernauszählungen nachweisen, daß für die Reduktion der letalen Drüsenkerne eine embryonale Einwirkung postuliert werden muß, denn spätestens nach Beendigung der embryonalen Entwicklung ist die Zahl der Drüsenkerne bestimmt und ändert sich nicht mehr im Verlaufe des Larvenlebens.

In der Zeit der larvalen Differenzierung der Speicheldrüse greift der Letalfaktor noch mindestens zweimal in den Entwicklungsablauf ein. Das eine Mal beim Manifestwerden der Wachstumsunterschiede der normalen und letalen Speicheldrüse, wobei die phänokritische Phase zwischen 48 und 72 Std liegt, das andere Mal bei der Schädigung des Imaginalringes, ohne daß aber in diesem Fall der Zeitpunkt fixiert werden kann.

Das Beispiel der Speicheldrüse zeigt also, daß der Letalfaktor zeitlich zu verschiedenen Malen in die Entwicklung ein und desselben Organs eingreifen kann,

doch wird er sich erst in jenem Moment manifestieren können, wenn dafür bestimmte Voraussetzungen gegeben sind, worüber wir allerdings keine bestimmten Angaben machen können. Das Schädigungsmerkmal scheint sich erst dann auszubilden, wenn das Organsystem eine ganz bestimmte Entwicklungsstufe erreicht hat.

Die Transplantationsergebnisse Gloors (1943) mit den letalen Gonaden verschiedenen Alters ergeben ebenfalls gewisse Anhaltspunkte über den Zeitpunkt des Eingreifens des Letalfaktors, denn mindestens 75 Std nach dem Schlüpfen verhält sich das letale Ovar insofern autonom, als Transplantation in einen normalen Wirt keine volle Normalentwicklung zuläßt.

3. Die Frage nach der primären und sekundären Pleiotropie.

Wie bereits mehrfach angeführt wurde, verursacht der Letalfaktor *lgl* ein charakteristisches, pleiotropes Manifestationsmuster, wobei prinzipiell zwei Pleiotropietypen (die Hadorn 1945 definiert hat) zur Wirkung kommen können: Bei primärer Pleiotropie beeinflußt der Faktor primär und unabhängig die einzelnen Organe, wirkt sich demnach direkt in den angegriffenen Geweben aus, bei der sekundären Pleiotropie dagegen wird ein übergeordnetes System betroffen, die übrigen Phäne würden demnach in Korrelation mit diesen Primärschäden zustande kommen.

Die Experimente Hadorns (1937) und Gloors (1943 und 1945) haben gezeigt, daß der somatische Anteil der letalen Gonaden bei Transplantation in normalen Wirt zu normaler Differenzierungsleistung befähigt sind, der somatische Anteil ist somit nicht irreparabel geschädigt, sondern das letale Milieu hindert diese somatischen Zellen an ihrer imaginalen Entwicklung. Auch das letale Integument kann zu normaler Leistung geführt werden. Hadorn und Neel (1937) wiesen nach, daß durch Zugabe von normal funktionierender Ringdrüse die letale Larve imstande ist, ein Puparium zu bilden, ohne daß es allerdings innerhalb dieses Pupariums zu normaler Metamorphose kommen würde. Das Reaktionssystem (larvales Integument) wäre für eine Normalentwicklung bereit, wird aber durch die Schädigung des Aktionssystems (Ringdrüse) in seiner Normalleistung gehindert.

Gonadensoma und Integument sind demnach sekundär geschädigt, wobei im Falle des Integumentes das Versagen der letalen Ringdrüse die Schädigung verursacht. Immerhin ist auch für die Haut nicht nachgewiesen, daß sie zu voller Metamorphoseleistung befähigt ist.

Die Lösung der Frage nach der primären Pleiotropie stößt auf größere Schwierigkeiten. Wenn bei Transplantation von letalem Gewebe in normalen Wirt eine Weiterentwicklung in imaginaler Richtung nicht zustande kommt, darf dennoch nicht ohne weiteres auf direkte Schädigung geschlossen werden, denn die Letalität könnte schon vor der Vornahme des Experimentes induziert worden sein durch Einfluß des Versagens eines übergeordneten Systems. Um sicher zu gehen, sollten bereits die ersten Anlagen der betroffenen Organe experimentell behandelt werden, was aber technisch auch unüberwindliche Schwierigkeiten stößt. Immerhin geben die Untersuchungen an den Gonaden, an den

Speicheldrüsen und an den Imaginalscheiben wichtige Hinweise, daß der Faktor *lgl* diese Organe direkt, also primär, schädigt. Gloor (1943) wies darauf hin, daß die Ausprägung der Letalwirkung für die Ovarien konstant ist und vor allem unabhängig vom Alter des Spenders und daß es andererseits nicht gelungen ist, irgendwelche schädigende Wirkung letaler Wirtslarven auf genetisch normale Gonadenimplantate nachzuweisen.

Andererseits muß aber auf die Resultate Gloors verwiesen werden, wonach durch Transplantation normaler Ringdrüsen sowohl das Wachstum als auch die Differenzierung der Gonaden gefördert wird, doch kommt es niemals zu vollständiger imaginaler Differenzierung der Transplantate. Die Versuche zeigen, daß wohl eine direkte Letalität festgestellt werden kann, daß aber durch das Versagen des hormonspendenden Aktionssystems die primäre Hemmung sekundär verstärkt wird. Die Ovarien schließen demnach beide Pleiotropietypen in sich, wobei aber über die definitive Fehlleistung die primäre Pleiotropie entscheidet.

Daß auch die Imaginalscheiben direkt betroffen werden, zeigten die Transplantationsversuche Hadorns (Hadorn und Neel 1937). Auf die Transplantation normaler Ringdrüse reagierte nur das larvale Integument mit Puparium-bildung, die Imaginalscheiben dagegen verblieben in einem entwicklungsfähigen Stadium.

Die Untersuchungen an den Speicheldrüsen bestätigen eindeutig die Annahme Gloors, daß der Faktor *lgl* an gewissen Orten direkt angreift. Es besteht keine Abhängigkeit zwischen der Schädigung der Ringdrüse und der Schädigung der Speicheldrüse; denn durch die Transplantation normaler Ringdrüsen in letale Larven konnte weder die Schädigung des Imaginalringes noch die Hemmung des Wachstums beeinflußt werden. Diese beiden Systeme scheinen demnach durch den Faktor *lgl* direkt geschädigt zu sein. Diese Annahme erhält um so größere Wahrscheinlichkeit, als nachgewiesen werden konnte, daß der Faktor *lgl* schon frühzeitig, bereits embryonal, in das Entwicklungsgeschehen eingreift.

Wenn es auch nicht gelingt, für alle Fälle die Pleiotropieverhältnisse vollständig zu analysieren, geht doch aus diesen Untersuchungen hervor, daß sich am Schädigungsmuster des *lgl*-Faktors beide Typen, sowohl die primäre als auch die sekundäre Pleiotropie, beteiligen können.

4. Diskussion der Gewebsspezifität der lgl-Wirkung.

Daß der *lgl*-Faktor selektiv nur gewisse Gewebspartien schädigt, also zellspezifisch wirkt, zeigen sowohl die Untersuchungen am Darmtraktus, an den Speicheldrüsen und an den Keimdrüsen. Nur ganz bestimmte Gewebsbezirke werden durch den Letalfaktor betroffen, während die umgebenden Zellen keine Schädigung aufweisen. Im Fall des Darmtraktus wird der Imaginalring des Vorderdarmes, aus dem sich der imaginale Kropf und der Proventrikel bildet, so stark geschädigt, daß bei letalen Individuen keine Bildungspotenzen für imaginale Differenzierung da sind. Das larvale Gewebe, das Pharynx und Proventrikel aufbaut, zeigt dagegen vollständig normalen Aspekt. Beim letalen

Mittel- und Hinterdarm stimmen sowohl Morphologie als auch Entwicklungsleistung mit dem Normalen überein.

Eindrucksvoll ist diese Zellspezifität ebenfalls bei den Keimdrüsen, wo irreparabel nur die Keimzellen geschädigt werden, die somatischen Anteile dagegen sind zu normaler Differenzierung befähigt. Auch hier wird nicht das ganze Organ geschädigt, sondern nur ganz bestimmte Gewebspartien.

Die Versuche an den Speicheldrüsen führen uns zu gleichem Schluß. In diesem Fall wird nur das imaginale Gewebe dauernd beeinflußt, der larvale Anteil dagegen zeigt keine histologische Veränderung, sondern nur eine organspezifische Wachstumshemmung, die aber während der Zeit des Überlebens als Dauerlarven überwunden wird. Das Wachstum geht anschließend sogar weiter als in einer Normallarve.

Bei der Ringdrüse, einem zusammengesetzten Organ, leiden nur die Hauptzellen und das Corpus allatum unter dem Letalfaktor, während die Corpora cardiaca intakt bleiben (VOGT 1947).

5. Die Entwicklungsleistung der untersuchten Organe.

Sowohl die Arbeiten GLOORS als auch die vorliegende Untersuchung haben gezeigt, daß die Entwicklungsleistung der vom Faktor *lgl* geschädigten Organe nicht einheitlich ist, wobei sogar die Leistungen der einzelnen Gewebspartien eines und desselben Organes verschieden sein können (z. B. somatischer und germinativer Anteil der Keimdrüsen).

Die histologische Analyse vermag uns allein über den Grad der Letalität nicht Aufschluß zu geben, von ebenso großer Bedeutung ist die Frage der Entwicklungsleistung der letalen Organe in normalem Milieu. Ein Vergleich der experimentellen und histologischen Analyse wird uns erlauben, den Manifestationsbereich des Faktors *lgl* besser zu erfassen. In der nachfolgenden Tabelle 8 wird über die Einwirkung des Letalfaktors auf die beiden in einer Larve vorkommenden Entwicklungssysteme „larval" und „pupal" zusammenfassend berichtet.

6. Der Manifestationsbereich des Faktors lgl.

Die Zusammenstellung, die HADORN (1945) für die verschiedenen Letalitätsstufen macht, beruht auf morphologischer Erfassung des Probems. Ich möchte versuchen, den wichtigen Faktor „Entwicklungspotenz" in diese Zusammenstellung einzubeziehen, denn die oben angeführte Tabelle 8 zeigt, daß nicht unbedingt ein Zusammenhang zwischen histologischer Schädigung und Hemmung der Differenzierungsleistung besteht. HADORN unterscheidet hier folgende 3 Stufen: a) Es ist keine Abnormität festzustellen, weder in der Entwicklungsleistung noch in bezug auf die zellspezifische Reaktion: Enddarm und MALPIGHIsche Gefäße, somatischer Anteil der Gonaden, Mitteldarm, Integument und Corpora cardiaca der Ringdrüse. b) Entwicklungs- und Wachstumshemmung: Fettkörper, Corpus allatum und Hauptzellen der Ringdrüse, Speicheldrüse und Ovar (diese beiden letzten Organe wachsen in den älteren Dauerlarven über das normale Maß zu „pupaler" Größe). c) Keine Degeneration, aber dennoch Entwick-

Tabelle 8. *Zusammenstellung der Schädigungen der Organe von lgl/lgl auf Grund histologischer und experimenteller Untersuchungen.*

Organ	Histologischer Bau		Metamorphoseleistung
	larvaler Anteil	imaginaler Anteil	
Speicheldrüse	Verminderte Kernzahl. Wachstumsverzögerung	Verminderung der Kernzahl des Imaginalringes. Später Pyknosen	fehlt
Vorderdarm	normal	normal	fehlt
Mitteldarm	normal	normal	Bildung einer Art Gelbkörper in der Pseudopuppe, mit starker Wucherung der Imaginalzellen
Enddarm	normal	normal	Nach Transplantation Bildung eines imaginalen Enddarmes
Imaginalscheiben		Störung des zellulären Aufbaues. Einwanderung von Hypodermiszellen, die später Pyknosen aufweisen	fehlt
Fettkörper	Keine Untersuchungen. Bleibt klein		
Somatischer Anteil der Gonaden	normal		Weiterentwicklung zu imaginalem Gewebe
Ovar (Eizelle)		normal	Gestörte Follikel mit entwicklungsunfähigen Eiern
Hoden (Keimzellen)		Pyknosen	fehlt
Ringdrüse	Hauptzellen und Corpus allatum kleiner als normal. Corpora cardiaca normal	Corpus allatum kleiner. Corpora cardiaca normal	Corpus allatum wirkt normal gonadotrop
Integument	normal		Pseudopuppenbildung

lungsfehlleistung: weibliche Keimzellen, Imaginalring des Vorderdarmes. d) Fortschreitende Zell- und Gewebsdegeneration und zugleich auch Hemmung der Entwicklung in imaginaler Richtung: Männliche Keimzellen, Imaginalscheiben, Imaginalring der Speicheldrüse.

Die Einbeziehung des Faktors „Entwicklungspotenz" macht eine Schematisierung des Manifestationsbereiches des *lgl*-Faktors nicht einfacher, zeigt aber vor allem deutlich, daß ein Organ nicht als Ganzes betrachtet werden darf. Dies zeigt sich besonders am Darmsystem; denn da finden wir 3 Stufen der entwicklungsphysiologischen Beeinflussung. Der Mitteldarm entwickelt sich weiter in einer Letallarve als in einer Normalen, beim Enddarm deckt sich die letale Leistung mit derjenigen der Normallarve, während der Vorderdarm in der Leistung gegenüber dem Normalen zurückbleibt.

Des weiteren bestätigt diese Zusammenstellung, daß für die Letalität die Schädigung des imaginalen Systems entscheidend ist.

In einer neueren Arbeit versucht P. S. CHEN (1951) Einblick in das physiologische Verhalten einiger Letalmutanten zu erhalten, indem er deren O_2-Verbrauch und deren Trockengewicht während verschiedenen Entwicklungsphasen bestimmte. Für *lgl* ergaben sich dabei folgende Feststellungen. Der O_2-Verbrauch nimmt ständig zu bis zur 96stündigen Larve, ist aber stets allgemein geringer als bei den normalen *lgl/Cy*-Kontrolltieren. Während der Zeit der überlebenden Dauerlarven und der Pseudopuppen dagegen ist die O_2-Aufnahme nur minimal. Dieser Verlauf der O_2-Kurve weist darauf hin, daß eine Letallarve 96 Std nach dem Schlüpfen aus dem Ei verpuppungsbereit wäre, die Verpuppung aber durch die Unterfunktion der Ringdrüse verhindert wird. Im Innern der Larven und Pseudopuppen ist die Atmung sehr tief, aber nie Null. Meine Untersuchungen können dieses Andauern eines Stoffwechsels erklären, weil 1. in den Pseudopuppen wahrscheinlich langsam ein Gelbkörper gebildet wird, 2. die Speicheldrüsen stark vakuolisiert werden, dagegen finden keine weiteren Metamorphoseprozesse statt, die einen stärkeren Stoffwechsel verursachen würden.

Zusammenfassung.

Untersuchungen an der letalen Mutante „*lethal giant larvae*" [*l(2)gl*] haben zu den nachfolgenden Ergebnissen geführt:

1. Das Wachstum der *lgl/lgl*-Speicheldrüsen ist gegenüber demjenigen der normalen Kontrollen verzögert und erst 144 Std nach der Eiablage wird die Speicheldrüsenlänge einer verpuppungsreifen Normallarve von 96 Std erreicht.

2. Der Speicheldrüsenkörper weist weniger und kleinere Kerne auf als der Normale.

3. In der Relation Körperwachstum/Speicheldrüsenwachstum lassen sich folgende 3 Phasen unterscheiden: a) Wenig gehemmtes Wachstum des letalen Körpers, dagegen stark gehemmtes Wachstum der Speicheldrüse. b) Die Körperlänge bleibt mehr oder weniger stabil, die Speicheldrüsen dagegen holen an Länge stark auf. c) Vorauseilen der Speicheldrüsen zu „präpupaler" Größe, Ausbleiben der Puparіumbildung im Körper.

4. Das Wachstum der Speicheldrüse erfolgt rhythmisch. Für dieses Verhalten konnten keine Gründe gefunden werden.

5. Die Histologie des Imaginalringes der Speicheldrüse unterscheidet sich in einigen wesentlichen Punkten vom Normalen. Ein 96stündiger Imaginalring hat weniger und kleinere Kerne. In älteren Larvenstadien treten dann auch intranukleäre Pyknosen auf.

6. Transplantationsexperimente haben ergeben, daß der Imaginalring irreparabel geschädigt und die Fähigkeit zu imaginaler Weiterentwicklung nicht vorhanden ist.

7. Die Störung der Entwicklungsprozesse der letalen Speicheldrüse muß auf primärer, direkter Einwirkung des Letalfaktors beruhen, da implantierte Ringdrüsen weder das Wachstum der larvalen Speicheldrüse noch ihre Entwicklung in imaginaler Richtung zu fördern vermögen.

8. Untersuchungen am Darmtraktus ergaben weder morphologische noch histologische Unterschiede zwischen letalen und normalen Larven.

9. Die Entwicklungspotenzen des Anlagematerials für das imaginale Darmsystem sind für die einzelnen Darmabschnitte nicht einheitlich. Der Imaginalring des Vorderdarmes ist zu keiner Weiterentwicklung befähigt. Die Imaginalnester des Mitteldarmes bilden in den Pseudopuppen eine Art Gelbkörper, wobei sich an dessen Aufbau besonders die aus den Histoblasten stammenden Imaginalzellen beteiligen. Der hintere Imaginalring hat seine Entwicklungsfähigkeit beibehalten.

10. Die Imaginalscheiben gehören zu jenen Organen, die durch die Wirkung des Faktors *lgl* sowohl morphologisch als auch histologisch am stärksten geschädigt werden. Sie verfügen über keine Metamorphosepotenzen, wie dies die Transplantationsergebnisse zeigen.

11. Das pleiotrope Schädigungsmuster des Letalfaktors *lgl* ist in seiner Gesamtheit das Ergebnis einer komplizierten, nach Ort und Zeit zellspezifisch abgestuften Wirkung.

Literatur.

Baltzer, F.: Über erbliche, letale Entwicklung und Austauschbarkeit artverschiedener Kerne bei Bastarden. Naturwiss. **28** (1940). — Bodenstein, D.: Untersuchungen zum Metamorphoseproblem. I. Roux' Arch. **137** (1938). — Factors influencing growth and metamorphosis of the salivary gland in *Drosophila*. Biol. Bull. **84** (1943). — Burtt, E. T.: On the corpora allata of dipterous insects. II. Proc. Roy. Soc. Lond. **126** (1938). — Chen, P. S.: A comparative study of the oxygen consumption in the three mutants „*ltr*", „*lgl*" and „*lme*" of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **84** (1951). — Chen, Tse-Yin: On the development of imaginal buds in normal and mutant *Drosophila melanogaster*. J. of Morph. **47** (1929). — Ephrussi, B., and G. W. Beadle: A technique of transplantation for *Drosophila*. Amer. Naturalist **70** (1936). — Gloor, H.: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Gonaden einer Letalrasse (*lgl*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **50** (1943). — Zur Entwicklungsphysiologie und Genetik des Letalfaktors *crc* bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **20** (1945). — Gloor, H., u. E. Hadorn: Vergleich der Schädigungen im Ovar von *Drosophila melanogaster* bewirkt durch einen Letalfaktor und ein Sterilitätsgen. Arch. Klaus-Stiftg **17** (1942). — Grob, H.: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen der Letalrasse *lgl* von *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **21** (1946). — Hadorn, E.: An accelerating effect of normal „ring glands" on puparium-formation in lethal larvae of *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **23** (1937). — Transplantation of gonads from lethal to normal larvae in *Drosophila melanogaster*. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **36** (1937b). — Die Degeneration der Imaginalscheiben bei den letalen *Drosophila*-Larven der Mutation „*letahl-giant*". Rev. suisse Zool. **45** (1938). — Prädetermination des Letalitätsgrades einer *Drosophila*-Rasse durch den mütterlichen Genotypus. Rev. suisse Zool. **47** (1940a). — Über letal wirkende Erbfaktoren. Schweiz. med. Wschr. **1940**b. — Hormonale und genetische Voraussetzung der Metamorphose. Rev. suisse Zool. **48** (1941). — Genetische und entwicklungsphysiologische Probleme der Insektenontogenese. Fol. Biotheoretica **1948**a, Nr 3. — Gene action in growth and differentiation of lethal mutants of *Drosophila*. Symposia Soc. Exper. Biol. **1948**b, No 2. — Physiogenetische Untersuchungen an *Drosophila*-Blastemen aus letalen Genotypen. Rev. suisse Zool. **57** (1950). — Developmental action of lethal factors in *Drosophila*. Adv. Genet. **4** (1951). — Hadorn, E., et H. Gloor: Die Auswirkung eines Letalfaktors (*lgl*) bei *Drosophila melanogaster* auf Wachstum und Differenzierung der Gonaden. Rev. suisse Zool. **49** (1942). — Hadorn, E., u. J. Neel: Der hormonale Einfluß der Ringdrüse (Corpus allatum) auf die Pupariumbildung bei Fliegen. Roux' Arch. **138** (1938). — Kovalevsky, A.: Beiträge zur Kenntnis der nachembryonalen Entwicklung der *Muscicden*. Z. Zool. **45** (1887). — Pérez, C.: Recherches histologiques sur la métamorphose des *Muscides (Calliphora)*. Archives de Zool., Ser. V^4 (1910). — Poulson, D. F.: The embryonic development of *Drosophila melanogaster*. Actualités scientifiques et industrielles. Paris 1937.

Paris: Hermann & Cie. 1937. — Risler, H.: Kernvolumenveränderungen in der Larvenentwicklung von *Ptychopoda seriata* Schrk. Biol. Zbl. **69** (1950). — Robertson, Ch. W.: The metamorphosis of *Drosophila melanogaster*, including an accurately timed account of the principal morphological changes. J. of Morph. **59** (1936). — Experimental verification of metamorphic phenomenons in *Drosophila*. Genetics **12** (1937). — Ross, F. B.: The postembryonic development of the salivary glands of *Drosophila melanogaster*. J. of Morph. **65** (1939). — Scharrer, B., and E. Hadorn: The structure of the ring gland (corpus allatum) in normal and lethal larvae of *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **24** (1938). Snodgrass, R. E.: Anatomie and metamorphosis of the apple maggot *Rhagoletis pomonella* Walsh. J. Agric. Res. **28** (1924). — Sonnenblick, B.: The salivary glands in the embryo of *Drosophila melanogaster*. Genetics **25** (1940). — Strasburger, M.: Bau, Funktion und Variabilität des Darmtraktus von *Drosophila melanogaster*. Meig. Z. Zool. **140** (1932). — Vogt, M.: Die Förderung der Eireifung innerhalb heteroplastisch transplantierter Ovarien von *Drosophila melanogaster* durch gleichzeitige Implantation der arteigenen Ringdrüse. Biol. Zbl. **61** (1940). — Anatomie der pupalen *Drosophila*-Ringdrüse und ihre mutmaßliche Bedeutung als imaginales Metamorphosezentrum. Biol. Zbl. **61** (1941). — Die Puparisierung als Ringdrüsenwirkung. Biol. Zbl. **62** (1942). — Verhalten transplantierter Ringdrüsen „letaler" *Drosophila*-Larven. Z. Naturforschg **27**, H. 7/8 (1947).

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 84, S. 361—416 (1952).

Aus dem Institut für Geschichte der Kulturpflanzen, Deutsche Forschungshochschule, Berlin-Dahlem.

CYTOGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN *FRAGARIA ORIENTALIS* LOS. UND IHRE BEDEUTUNG FÜR ARTBILDUNG UND GESCHLECHTSDIFFERENZIERUNG IN DER GATTUNG *FRAGARIA* L.

Von

Günter Staudt.

Mit 14 Textabbildungen und 1 Karte.

(Eingegangen am 6. März 1952.)

Einleitung.

Im Rahmen der cytogenetischen Bearbeitung der Gattung *Fragaria* und der Untersuchungen zur Aufklärung der phylogenetischen Entwicklung der einzelnen Arten war es von besonderer Wichtigkeit, sich den tetraploiden Arten, den Arten der ersten Polyploidiestufe zuzuwenden. Von den heute bekannten tetraploiden Arten, *Fragaria orientalis*, *Fr. moupinensis* und *Fr. spec. 1346* (cf. *corymbosa*), wurde die erste in die Versuche einbezogen, da sie die einzige war, die bei Versuchsbeginn (1948) zur Verfügung stand.

Das ursprüngliche Ziel der experimentellen Untersuchungen war der Versuch einer phylogenetischen Analyse der *Fr. orientalis* auf genetischer Grundlage. Untersuchungen von Schiemann (Vortrag Int. Bot. Congr. 1950) hatten gezeigt, daß in der Nachkommenschaft (F_2) einer pentaploiden Bastardpflanze *Fr. vesca* × *Fr. moschata* (entstanden aus einem unreduzierten ♀-Gameten und einem Pollenkorn mit normal reduziertem Chromosomensatz) Pflanzen auftraten, die gewisse Ähnlichkeiten mit *Fr. orientalis* aufwiesen. Daneben spalteten Pflanzen heraus, die entweder zum ♂-Elter der Parentalgeneration hinneigten oder der F_1-Pflanze ähnlich waren. Die cytologischen Untersuchungen unterstrichen die auf morphologischen Merkmalen aufgebaute Gruppenbildung. Die Pflanzen der *orientalis*-ähnlichen Gruppe sollen ± 28 Chromosomen haben, die der 2. Gruppe ± 42 und die der 3. Gruppe ± 35 Chromosomen. Diese Ergebnisse wiesen auf eine mögliche Entstehungsweise der tetraploiden *Fr. orientalis* hin.

Im Laufe der Untersuchungen traten noch 2 Fragen auf, deren Bearbeitung die ursprünglich geplante reine cytogenetische Analyse der phylogenetischen Beziehungen aufs beste ergänzen konnte. Es sind dies die Fragen der geographischen Verbreitung gewesen, die von großer Wichtigkeit für die phylogenetischen Zusammenhänge sind und die Fragen der Geschlechtsbestimmung und Geschlechtsvererbung. Die geographische Verbreitung der Arten der Gattung *Fragaria* ist bereits eingehend dargestellt worden[1].

Im Hinblick auf die Geschlechtsbestimmung waren die Angaben von Petrov und Tukan (1937) zu überprüfen, nach denen bei *Fr. orientalis* ein, von der sonst bei *Fragaria* vorkommenden Geschlechtsbestimmung im ♀-Geschlecht, abweichender Modus vorhanden sein soll: Heterogametie des ♂-Geschlechts.

[1] Staudt, Diplomarbeit 1950. Vgl. auch Staudt 1951.

Es ergeben sich somit 2 Problemstellungen, zu deren Lösung die folgende Arbeit einen Beitrag leisten soll:

1. Das Problem der Artbildung und der phylogenetischen Beziehungen und
2. das Problem der Geschlechtsbestimmung und -vererbung.

Zur Lösung des ersten Problems werden die Ergebnisse der cytogenetischen und morphologischen Untersuchungen und der Studien über die geographische Verbreitung herangezogen werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen über die Geschlechtsausbildungen der Elternarten und der Kreuzungsnachkommenschaften werden an der Aufklärung des zweiten Problems Anteil haben.

Tabelle 1.

	4 x *Fr. orientalis*	
	♀	♂
2 x *Fr. vesca*	+	+!
4 x *Fr. vesca*	—	+!
2 x *Fr. viridis* . . .	+	+!
2 x *Fr. nilgerrensis* .	—	+!
4 x *Fr. 1346*	+!	
6 x *Fr. moschata* . .	+!	+!
8 x *Fr. virginiana* .		+!
8 x *Fr. chiloensis* . .	+	

+ = Ansatz gering
+! = Ansatz gut
— = kein Ansatz.

In den Jahren 1948—1951 wurden alle zur Verfügung stehenden Arten mit *Fr. orientalis* gekreuzt. Soweit es möglich war, geschah dies in beiden Richtungen. Über die Erfolge dieser Kreuzungen gibt Tabelle 1 Auskunft. Die Bearbeitung der Nachkommenschaften ist bisher nur für die Kreuzungen *Fr. vesca* × *Fr. orientalis* und *Fr. viridis* × *Fr. orientalis* und die reziproken abgeschlossen worden. Über diese wird im folgenden eingehend berichtet werden.

I. Material und Methodik der Untersuchungen.

Kreuzungsmaterial. Für die Kreuzungen wurden folgende Sippen (Klone) des Sortiments des Instituts für Geschichte der Kulturpflanzen benutzt:

Fr. vesca Si 8 Herkunft: Botanischer Garten Straßburg
Si 3048 Umgebung von Jena

Beide Sippen werden seit Jahren durch aus Selbstungen gewonnenen Samen lebend gehalten.

Fr. viridis Si 1076 Herkunft: Umgebung von Jena
Si 804 Botanischer Garten Berlin
Si 3692 Hiddensee, Alt-Bessin
Si 3693 Hiddensee, Alt-Bessin

Ihrer Selbststerilität wegen können die *viridis*-Sippen nur vegetativ vermehrt werden. Sie werden in Klonkulturen gehalten.

Fr. orientalis Si 1425 ♀
Si 1823 ♂
Si 3272 ♀
Si 3296 ♀

Diese Klone gehen auf Aussaaten von Samen zurück, die 1931 durch Vermittlung von Prof. C. REGEL (damals Botanischer Garten Kaunas) aus der Mandschurei, aus Echo, Station Tien-Ling-Ho an der Ost-Mandschurischen Eisenbahn, erhalten wurden. Die benutzten Sippen werden seitdem vegetativ vermehrt.

Kreuzungs- und Anzuchttechnik. Die zwittrigen Blüten wurden vor dem Aufblühen kastriert und durch Pergamintüten, die unten am Infloreszenzstiel dicht zusammengefaltet wurden, gegen Fremdbestäubung geschützt. Bei den ♀-Pflanzen der *Fr. orientalis* erübrigte sich die Kastration. Meist wurde 1—3 Tage später bestäubt; es wurde versucht in dem Zeitraum zu bestäuben, in welchem von den Narben Sekrettropfen abgeschieden werden. Die Blütezeit erstreckte sich 1948 vom 22. April bis 15. Mai. Die Ernte war gegen Ende Juni abgeschlossen. Die Aussaat der Nüßchen fand am 22. Juli statt. Keimbeginn am 14. August.

Pikieren und später Umpflanzen in Töpfe. Die jungen Pflanzen überwinterten in abgedeckten Frühbeetkästen und wurden im Frühjahr 1949 ins Freiland verpflanzt. Im Frühsommer 1950 haben diese Pflanzen zum ersten Male normal geblüht. Zur Erzielung einer Generation sind also 2 Jahre nötig, was sich auf Kreuzungsanalysen sehr hindernd auswirkt.

Cytologische Technik. Die cytologischen Untersuchungen der Mitosen und Meiosen wurden an Quetschpräparaten durchgeführt. Hierfür wurde in Alkohol-Eisessig-Gemisch 3:1 fixiert und nach der Heitzschen Heißmethode mit Karminessigsäure die Quetschpräparate angefertigt.

Eine neue Methode der Chromosomenfärbung, die ebenfalls mit Erfolg angewendet wurde, beruht auf dem Gehalt der Zellen an gelösten Gerbstoffen. Gibt man zu fixiertem Material (Wurzelspitzen, Antheren oder Kronblättchen) beim Erhitzen auf dem Objektträger etwas verdünnte $FeCl_3$-Lösung, oder fixiert man das betreffende Material gleich mit $FeCl_3$-haltigem Alkohol-Eisessig-Gemisch, so erhält man in vielen Fällen tief schwarz gefärbte Chromosomen auf fast farblosem Grund. Meist wurde die letzte Methode angewendet, wobei auf 100 cm^3 Fixierflüssigkeit 5 Tropfen gesättigte Eisen(III)chlorid-Lösung genommen wurden. Die Färbung der Chromosomen beruht wahrscheinlich auf einer Adsorption der Gerbstoffe an dem Chromosomeneiweiß (Beizung) und nachfolgender Anfärbung, indem die hinzugegebenen Eisen(III)ionen mit den Gerbstoffen eine schwarzblau gefärbte Verbindung bilden. Die Mikrophotographie Abb. 4m zeigt auf die geschilderte Weise gefärbte Chromosomen.

Die gute Beizenwirkung der Gerbstoffe (Tannin) ist in der mikroskopischen Technik nicht unbekannt. Die Tanninbeizung mit nachfolgender Eisenchloridfärbung ist seit Koch (1896) bekannt und wird besonders zur Färbung der Zellwände benutzt. Schon Koch wies darauf hin, daß auch die Zellkerne von der Färbung betroffen werden. Um die Ausweitung der Eisenchloridfärbung der Chromosomen auf andere Objekte zu erproben, wurden Wurzelspitzen von *Quercus* (gerbstoffhaltig) und von *Tradescantia* (gerbstofffrei) untersucht. Während erstere mit $FeCl_3$ schwarz gefärbte Chromosomen zeigen, fehlt eine Anfärbung bei *Tradescantia* vollständig.

Das für die anatomischen Präparate der männlichen und weiblichen Geschlechtsorgane benutzte Material wurde in Flemming, Navashin, Alkohol-Eisessig oder Juel II fixiert. Sehr prägnante Unterschiede in der Auswirkung der verschiedenen Fixiergemische konnten nicht festgestellt werden. Doch darf dem Flemmingschen Gemisch bei weiteren diesbezüglichen Untersuchungen der Vorzug gegeben werden, weil eine bessere Fixierung und eine intensivere Färbbarkeit festgestellt worden ist. Die Schnittdicke betrug 11—12μ. Meist wurden die Präparate vor der Färbung einer 1% Chromsäurebeizung ausgesetzt. Gefärbt wurde mit einer 1,5% alkoholischen Safraninlösung.

Die mikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem Leitzmikroskop (Objektiv: $^1/_{12}$Ölimmersion) durchgeführt. Die Mikroaufnahmen wurden mit einer Leica und einem Leitz-Mibac-Mikroaufsatz gemacht.

II. Die experimentellen Untersuchungen.

A. Beschreibung der Elternarten.

Die systematische Gliederung der Gattung *Fragaria* ist schwierig, weil sich die einzelnen Arten nur in sehr wenigen Merkmalen unterscheiden. Es hat sich gezeigt, daß diese wenigen Merkmale weiterhin durch Umweltbedingungen in großem Maße abgewandelt werden können. So ist es erklärlich, daß viele Diagnosen, besonders von neuen Arten, z. B. bei Rydberg (1908) und Losina-Losinskaja (1926), selbst für einen Kenner unbrauchbar sind. Ausführliche Beschreibungen der hier benutzten Arten haben Hegi (1922) und Losina-Losinskaja bereits gegeben. Bei der folgenden Charakterisierung der Arten sind nur die wesentlichen Merkmale ausgewählt worden, die auch in den Nachkommenschaften einigermaßen verfolgt werden konnten. Eine Zusammenstellung der geographischen Verbreitung der Gattung *Fragaria* hat ebenfalls Losina-Losinskaja in ihrer Monographie 1926 gegeben, doch ist diese nur für die russischen Gebiete als ausführlich anzusehen.

a) Fragaria vesca L.

α) *Morphologie. Fr. vesca* ist der Typus der Gattung und repräsentiert den Typ, der gemeinhin als Walderdbeere bekannt ist (Abb. 5b). Die Blätter sind breit-rhombisch (Abb. 6, Fr. 4), dünn, Adern auf der Blattoberseite fast nicht hervortretend. Die Blattfarbe ist frischgrün. Beim herbstlichen Blattfarbstoffabbau färben sich die Blätter erst gelb, später braun. Die Blütenstände stehen steif aufrecht, die Blüten überragen stets die eine Rosette bildenden Blätter. Die Blüten sind relativ klein (Abb. 7a), die Anzahl je Blütenstand ist jedoch groß. Die Petalen sind fast rund und rein weiß, sie sind freistehend oder überdecken sich mit ihren Rändern. Außen- und Innenkelch sind gleich lang und nicht über die Korolle hinausragend. Die Scheinfrüchte sind kugelig, so bei Sippe 8 (Abb. 8b), bei anderen Sippen auch länglich-konisch und besitzen eine frische rote glänzende Farbe. Sie lösen sich leicht vom Blütenboden, denn es ist eine vorgebildete Trennungsstelle vorhanden. Das Fruchtfleisch ist schwammig trocken; der Geschmack ist typisch für „Walderdbeeren". Die Nüßchen sitzen oberflächlich, höchstens in flachen Mulden. Im Stadium der reifen Scheinbeere ist der Kelch waagerecht abstehend bis zurückgeschlagen. Die Ausläufer sind sympodial aufgebaut und verzweigt.

β) *Geschlechtsausbildung und Histologie der Geschlechtsorgane.* Die Geschlechtsausbildung der Blüten ist zwittrig (Abb. 7a). Die Stamina sind klein, und die Antheren sitzen auf kurzen Filamenten. Sie sind im reifen Zustand gold-gelb gefärbt, dehiszieren gut und stäuben den trocknen Pollen aus. Die Auszählungen zur Überprüfung der Pollenfertilität ergaben bei 3606 durchgesehenen Pollenkörnern 3375 morphologisch gut aussehende, also 93,5%, Pollenkörner (siehe Tabelle 15, S. 399). Bei dieser und allen weiteren Pollenauszählungen wurden die morphologisch gut aussehenden Pollenkörner als fertil angesehen. Der Ansatz bei frei abgeblühten Blüten ist fast 100%ig, bei Selbstungen nur wenig geringer. Alle *vesca*-Sippen sind selbstfertil.

Die für die histologische Untersuchung der Samenanlagen und des ♀-Gametophyten beobachteten frühesten Stadien stammen aus einer noch fest geschlossenen Blütenknospe; die Pollenkörner sind schon frei, haben aber noch keine fertig ausgebildete Exine. Die Fruchtblätter sind noch nicht an ihren beiden Enden verwachsen. Als Höcker der Plazenten sind junge Samenanlagen (Nucelli) zu sehen, die erst atrop sind und sich erst später in ihre campylotrope Stellung wenden. Subepidermal werden dann im jungen Nucellus bis zu 5 Archesporzellen angelegt. Von diesen können wohl im Maximalfall alle die Reduktionsteilung durchmachen. In späteren Stadien (Blüte offen, Staubblätter zum Stäuben bereit) hat das Integument den Nucellus völlig umwachsen. Der Embryosack ist bis zum äußersten Nucellusrand vorgewachsen. Synergiden, Eizelle und Antipoden sind dann ausgebildet, die Polkerne wandern aufeinander zu, liegen dicht beieinander oder sind bereits verschmolzen. Während in der Regel nur ein Embryosack ausgebildet wird, sind zwei voll ausgebildete Embryosäcke keine große Seltenheit (vgl. Rudloff 1930). In einem Fall wurden sogar 3 Embryosäcke beobachtet, von denen aber der mittelste von den beiden äußeren sehr stark am Wachstum gehindert worden ist. Wird nur 1 Embryosack angelegt, so ist dieser sichtbar kräftiger ausgebildet. Im weiteren Verlauf der Entwicklung dürfte nun die Befruchtung erfolgen. In Blüten, von denen die Stamina

bereits abgefallen und die Narben abgestorben (braun-schwarz gefärbt) sind, beginnt in dem den Embryosack umgebenden Nucellusgewebe ein lebhaftes Kern- und Zellteilungswachstum. Besonders auffallend sind die zahlreichen, sich intensiv anfärbenden Kerne. Diese Erscheinung muß noch eingehend geprüft werden. Jetzt sind auch die kleinen, in Suspensor und Oktantenkugel gegliederten Embryonen zu sehen. Die Nüßchenschalen sind in diesem Stadium bereits durch Verholzung der Fruchtschale und Einlagerung von Oxalatkristallen in etwas tiefer liegenden Zellschichten derart verhärtet, daß eine Anfertigung von Schnitten äußerst schwierig ist. Über die Weiterentwicklung der 2 Embryosäcke enthaltenden Samenanlagen konnten keine Beobachtungen gemacht werden.

In kleinen Knospen, in denen gerade die Ausbildung der Nucellushöcker beginnt, ist in den Staubblättern schon die Reduktionsteilung vor sich gegangen. Die Tapetumschicht liegt der Pollensackwandung an. Die Tetraden liegen noch im festen Zellverband, sie sind noch nicht sehr deutlich gevierteilt. Eine Faserschicht mit Verdickungsleisten ist noch nicht ausgebildet. In größeren Knospen, Staubblätter und Receptaculum etwa gleich hoch, sind die Pollenkörner schon frei, wenn auch noch nicht von einer fertigen Exine umgeben, und die Faserschicht ist markant ausgebildet. Die ursprünglich angelegten 4 Pollensäcke sind durch Lösung der Scheidewände zwischen den zwei, zu einer Theke gehörigen, Pollensäcken zu je einem Hohlraum auf jeder Seite verschmolzen. An der Stelle, an der ursprünglich die Scheidewände mit der Epidermis verbunden sind, löst sich später die Pollensackwandung, um zu gegebener Zeit das Ausstäuben des Pollens zu ermöglichen.

γ) Cytologie. Die diploide Chromosomenzahl ist $2n = 14$. Die meiotischen Teilungen sind durch einen völlig normalen Ablauf gekennzeichnet. In den Diakinesen werden stets 7_{II} gebildet. In Anaphasen I wurde als einzige Unregelmäßigkeit das Spättrennen eines Bivalents in einer Häufigkeit von ungefähr 3% beobachtet. Die Äquationsteilung verläuft ohne Störung. Der gesamte Ablauf spiegelt sich in dem hohen prozentualen Anteil von morphologisch gut aussehenden Pollenkörnern an dem Gesamtpollen wieder.

δ) Geographische Verbreitung. Ganz Deutschland, außer Nordseeinseln (Hegi); Dänemark außer Westküste, Schweden, Norwegen, im nördlichsten Teil fehlend, einzelne Standorte jedoch bis zum Varanger Fjord und der Fischerhalbinsel gehend, Südküste der Halbinsel Kola (Hultén); Finnland (Hjelt); Estland, Livland und Kurland (Klinge). Kandalakscha, Archangelsk, Gebiet der Petschora, Gov. Tobolsk, Gov. Tomsk, Jennisseisk, Kreis Turuchansk (Losina-Losinskaja); ganz Ostsibirien (Komarov); Altai, Tien-Schan, Kuldscha, Semirestschensk, Kirgisische USSR (Los.-Los.); Turkestan und Turgan-Gebiet (Fedschenko); Chiwa, Uralgebiet, Nordpersien, Transkaukasien, Baku, Eriwan, Batum, Kleinasien: Brussa Phrygien, Samsun (Los.-Los.); Nordtürkei (Czeczott); Thracien, Macedonien, Thessalien, Mittelgriechenland, Peloponnes, Insel Euboea, Ionische Inseln, Epirus, Albanien, Bulgarien, Dobrudscha (Hayek); nach Komarov soll *vesca* im russischen Schwarzmeergebiet und dem unteren Wolgagebiet fehlen; Montenegro, Serbien, Bosnien-Herzegowina, Dalmatien, Kroatien (Hayek); ganz Italien mit Inseln (Arcangeli); Meeralpen (Burnat); ganz Frankreich und Korsika (Coste), ganz Spanien und Portugal (Willkomm); England und Schottland (Bentham and Hooker); Island (Gröntved).

Aller Wahrscheinlichkeit nach sind viele heute noch mit eigenen Artnamen bezeichnete Formengruppen synonym mit *Fr. vesca* oder wenigstens in die *vesca*-Gruppe der Erdbeeren zu stellen. Dieser Schluß beruht auf mannigfachen Literaturangaben und des weiteren auf Herbarstudien in London-Kew, Edinburgh, Stockholm, Uppsala und Paris, deren Ergebnisse ich der freundlichen Mitteilung von Prof. E. Schiemann verdanke.

Als erste sei *Fr. insularis* genannt, die Rydberg aus Cinchona (Jamaica) bestimmte und die auch die Azoren und Kanarischen Inseln besiedeln soll. Dagegen seien die Angaben von *Fr. vesca* für die betreffenden Lokalitäten genannt:

Azoren: Serra-Gorda-Pico, 1500 m (coll. Warburg 1929, Herb. Kew). San-Miguel (coll. Hunt 1848 und Carriere 1895, Herb. Kew).

Madeira: Funchal und Porto da Cruz (Lowe 1868).

Kanarische Inseln: Teneriffa (Pitard u. Proust 1908).

Jamaica: (Herb. Edinburgh).

Von nordamerikanischen Arten berichten Mangelsdorf und East (1927), daß *Fr. vesca, bracteata, americana* und *mexicana* morphologisch sehr ähnlich sind, sich ohne weiteres miteinander kreuzen lassen und vollfertile Nachkommenschaften geben. Die morphologische Übereinstimmung von *Fr. vesca* mit *bracteata, californica, americana* und *Helleri* bestätigt Ichijima (1926 und 1930), für einige Arten schließt er dies auch auf Grund der übereinstimmenden cytologischen Verhältnisse (für *vesca, bracteata, californica* und *americana*). Desweiteren macht Ichijima (1930) Angaben über das Vorkommen von *Fr. vesca* in Ecuador, Peru und Ostbrasilien (vgl. dazu *Fr. vesca*: Anden in der Umgebung von Quito [Herb. Edinburgh], Anden von Bogota, Brasilien Nähe Rio de Janeiro [Herb. Paris], Brasilien Prov. Minas Geraes [Herb. Stockholm]). Ob es sich hierbei um verwilderte Pflanzen handelt muß offenbleiben, Ichijima bezeichnet sie als „subspontaneous".

Auch einige der asiatischen Arten sind zweifelsohne synonym mit *Fr. vesca*, zumindest müssen sie in die *vesca*-Gruppe gestellt werden. *Fr. nubicola* wurde dem Institut aus Indien als *Fr. vesca* L. zugesandt (Indian Museum, Calcutta). Von Hooker, Flora British India II, 344 (1879) ist sie als *Fr. vesca* L. var. *nubicola* Lindl. bezeichnet worden. Übereinstimmend ist damit die Angabe von Troll (1939), daß *Fr. vesca* am Nanga-Parbat vorkommt, ein Gebiet, welches mitten im Areal der vermeintlichen *Fr. nubicola* liegt. (Vgl. dazu *Fr. vesca* aus West-Himalaya, West-Tibet und Afghanistan [Herb. Paris].)

Losina-Losinskaja (1926) und Juszepezuk (in Flora USSR **10**) weisen auf Gemeinsamkeiten zwischen *Fr. nubicola* und *Fr. bucharica* hin, so daß wahrscheinlich auch *Fr. bucharica* zur *vesca*-Gruppe gestellt werden muß. Leider ist es unmöglich, auf Grund der Diagnosen von Losina-Losinskaja irgendwelche eindeutigen Schlüsse zu ziehen.

Von den die japanischen Inseln bewohnenden Arten kann man geneigt sein *Fr. Iinumae* in die *vesca*-Gruppe zu stellen, und zwar auf Grund von Literaturangaben und Herbarexemplaren. Lilienfeld (1936) spricht z. B. von *Fr. vesca* aus Sapporo. Herb. Edinburgh: Prov. Mino, Mt. Nogo (coll. Sakurai) = typisch *vesca*. Jesso, in herbis Marujama prope Sapporo (coll. Takeda) ebenfalls *vesca*. Herb. Paris: Jesso, Hakkoda = *vesca*. Wir haben nun Originalsamen vom Mt. Hakkoda, Aomori, Hondo, erhalten und ausgesät. Obwohl sich die Pflanzen noch in jugendlichem Stadium befinden, kann schon jetzt gesagt werden, daß sie in ihrer Blattform nicht mit *vesca* übereinstimmen; ihre Blattfarbe und -konsistenz ist ebenfalls abweichend von den bisher bekannten *vesca*-Formen.

Die Karte (S. 404) gibt einen Überblick über die Verbreitung der *Fr. vesca*. Die zuletzt genannten Arten, die wahrscheinlich in die *vesca*-Gruppe gestellt werden müssen, sind mit Ausnahme von *Fr. americana*, für die die Zugehörigkeit zur *vesca*-Gruppe durch eigene Beobachtung an lebendem Material bestätigt werden konnte, noch nicht in die Karte aufgenommen. Das Areal von *Fr. vesca* erstreckt sich somit über die gesamte nördliche Halbkugel, sie ist im ganzen Gebiet des holarktischen Florenreiches verbreitet. In Eurasien, von Norwegen bis zum Himalaya verbreitet, klafft eine Lücke zwischen Ostsibirien und den japanischen Inseln. Aber auch für das dazwischen liegende Gebiet, Mandschurei und Korea, liegen Herbarexemplare vor (*Fr. vesca*: Korea [Herb. Paris]; Amur, leg. I. Dörfler 1899 [Herb. Kew]), so daß vielleicht bei genauerer Kenntnis dieser Gebiete die Lücke im Areal geschlossen werden kann. Die südlichste Verbreitung wäre die in Südamerika. Für die brasilianischen Fundorte möchte man wohl auf jeden Fall eine Verschleppung annehmen. Eine Spontanität der andinen Vorkommen in Höhenlagen, trotz unmittelbarer Nähe des Äquators, ist nicht unbedingt ausgeschlossen; es sind viele Gattungen bekannt, die in Nordamerika verbreitet sind und in südlicher Ausdehnung in den montanen Regionen der nördlichen Anden Südamerikas die ihnen zusagenden Lebensbedingungen wieder vorfinden.

b) Fragaria viridis Duch.

α) *Morphologie.* Für *Fr. viridis* (Abb. 9a) ist im Gegensatz zu *Fr. vesca* die dunkelgrüne Laubfarbe charakteristisch. Die Blattform ist länglich-oval (Abb. 13, 1076), der Blattrand ist gesägt, die Zähne sind spitzer und kleiner als bei *vesca*. Die Blattaderung tritt auf der Oberseite deutlicher hervor. Die Infloreszenzstiele ragen über die Rosette oder sind gleich hoch, sie sind aber weich und legen sich, besonders bei Ausbildung der Scheinfrüchte, auf den Boden. Die Zahl der Blüten je Blütenstand ist deutlich geringer als bei *vesca*. Die Blüten sind groß, die Petalen überdecken sich mehr oder weniger mit ihren Rändern und besitzen einen typischen grünlich-gelblichen Schimmer; dies ist besonders ausgeprägt bei jungen Blüten zu sehen. Der Außenkelch ist schmal und lang zugespitzt, der Innenkelch ist breit-spitz. Postfloral liegen meist beide, stets aber der Innenkelch, der ausgebildeten Scheinbeere an. Die Form der Scheinbeere ist in gewissem Maße von der Anzahl der ausgebildeten Nüßchen abhängig. Bei vollfertilen Scheinbeeren ist sie breit-rundlich (Abb. 11a). Sie sind nie so kräftig gefärbt wie die von *vesca*, dies ist jedoch von der Lage der Scheinbeeren (unter der Rosette oder freiliegend) zur Reifezeit abhängig. Die Farbe ist blaßrot bis weinrot. Die Nüßchen sind tief eingesenkt, jedoch nicht so tief, wie wir es von *Fr. virginiana* her kennen. Die Scheinbeere lößt sich schwer vom Blütenboden ab, an welchem beim Abreißen stets Fruchtfleisch hängenbleibt. Der Geschmack ist aromatisch, stachelbeerartig. Die Ausläufer sind *monopodial* aufgebaut und in den meisten Fällen unverzweigt.

β) *Geschlechtsausbildung und Histologie der Geschlechtsorgane.* Die Blüten sind zwittrig (Abb. 14b). Die Antheren sind besonders groß und kräftig ausgebildet und stehen in 3 Kreisen zu je 5 um das Receptaculum angeordnet. Diese Stellung der Staubblätter ist bei allen Arten die gleiche. Die Antheren sind goldgelb gefärbt und prall mit Pollen gefüllt; sie dehiszieren gut und enthalten im Durchschnitt 95,8% morphologisch gut aussehende Pollenkörner (Tabelle 15). Alle im Sortiment des Institutes vorhandenen *viridis*-Sippen erwiesen sich bei einer Prüfung als selbststeril; darauf mögen die Angaben in Floren zurückgeführt werden, in denen für *Fr. viridis* oft Gynomonözie usw. angegeben wird.

In der Entwicklung der Samenanlagen und des weiblichen Gametophyten konnte im großen und ganzen kein wesentlicher Unterschied zu der Entwicklung bei *vesca* festgestellt werden. Mehrere Male wurden auch hier zwei voll ausgewachsene, bis an den Nucellusrand reichende Embryosäcke beobachtet. In einem Fall waren, wie auch bei *vesca* in einem Fall beobachtet worden ist, 3 Embryosackmutterzellen zur Entwicklung gelangt, von denen aber nur eine zu einem normalen Embryosack ausgewachsen war. Die beiden anderen hatten in einem frühen Stadium ihre Entwicklung eingestellt.

In den jüngsten hier untersuchten Stadien der Staubblattentwicklung, aus einer noch geschlossenen Blütenknospe, ist die Tapetumschicht noch sichtbar, jedoch schon in einzelne Zellen zerfallen. Der Pollen löst sich gerade aus dem Tetradenverband. Die beiden Pollensäcke jeder Theke sind noch durch eine Scheidewand getrennt. Eine Faserschicht ist noch nicht ausgebildet. Im Laufe der Weiterentwicklung wird die Faserschicht ausdifferenziert, und die Scheidewände zwischen den Pollensäcken werden bis auf geringe Reste aufgelöst. Die Öffnung der Antheren geschieht in gleicher Weise wie bei *vesca*.

γ) *Cytologie.* Die diploide Chromosomenzahl beträgt $2n = 14$. In den Diakinesen werden regelmäßig 7_{II} gebildet. In Anaphasen I tritt auch bei *viridis* hin und wieder ein ungetrenntes Bivalent auf, welches zwischen den beiden protelophasischen Kernen liegt. Es ist nicht völlig ausgeschlossen, daß hier ein Fall von non-disjunction vorliegt (vgl. Ichijima 1930), doch ist es wahrscheinlicher, daß es sich um ein Spättrennen dieses Bivalentes handelt (vgl. bei *Fr. orientalis*, S. 375). Alle weiteren Stadien verlaufen ohne jede Störungen.

δ) *Geographische Verbreitung.* Ganz Deutschland (Hegi); Dänemark, in Norwegen nur in der Umgebung des Oslo-Fjordes und des Skiensfjordengebietes und einzelne Standorte nördlich davon, Schweden südlich des 60° nördl. Br., nur im NO bei Gärle darüber hinausgehend (Hultén); Ålandsinseln (Hultén und Hjelt); Estland, Livland, Kurland (Klinge); Gebiet des Ladoga- und Ilmensees, Gov. Nyland, Leningrad, Nowgorod, Kostroma, Gov. Süd-Perm, Jekaterinenburg, Tobolsk, Tomsk, Irkutsk, Jakutskigebiet (Los.-Los.); Lena- und Kolymagebiet (Komarov); Nordostufer des Baikalsees, Nordmongolei, Altai, Tien-Schan, Kuldscha, Gebiet von Semirestschensk, Semipalatinsk, Gebiet von Akmolowsk, Turgaisk (Los.-Los.); Turkestan und Turgangebiet (Fedschenko); Talysch, Transkaukasien, Lasistan, Krim (Los.-Los.); Macedonien, Thessalien, Serbien, Bulgarien, Dobrudscha, Montenegro, Bosnien und Herzegowina, Dalmatien, Kroatien (Hayek); ganz Italien (Arcangeli); Ungarn (Kitaibel); Meeralpen (Burnat); Frankreich (Coste); in Katalonien bis S. Juan del Herm und Montanastro (Willkomm); Nordfrankreich (Acloque); nicht in Großbritannien (Bentham und Hooker); entgegen den Angaben von Hegi und Ascherson und Graebener in Island fehlend (schriftliche Mitt. von Á. Löve-Reykjavik und Gröntved 1940).

Wie bei *Fr. vesca* werden bei genauerer Kenntnis der *Fragarien* sehr wahrscheinlich einige heute als Arten bezeichnete Formengruppen zu der *viridis*-Gruppe gestellt werden müssen. So z. B. *Fr. nipponica*, die in morphologischen Merkmalen, schmale stark geaderte Blätter, *monopodialer* Aufbau der Ausläufer, und physiologisch durch ihre Selbststerilität mit *Fr. viridis* übereinstimmt. Die Verbreitungslücke von Ostsibirien bis nach Japan ist aller Wahrscheinlichkeit (?) nach nicht existent. Im Herbar Paris liegen Exemplare von *Fr. viridis* aus dem Tal des Keroulen und der Mandschurei.

Besonders vermerkt sei, daß aus Amerika bis heute noch keine *Fr. viridis* oder eine ihr ähnliche Form bekannt geworden ist (s. Karte S. 404).

c) *Fragaria orientalis* Los.

α) *Morphologie.* Während von *Fr. vesca* und *Fr. viridis* Sippen aus den verschiedensten Gebieten und Ländern vorlagen und somit ein gewisser Überblick über geographische Variationen der Arten möglich war, müssen wir bei *Fr. orientalis* mit einer Beschreibung der in unserem Sortiment vorhandenen Sippen vorliebnehmen (Abb. 5a). Sie stimmen untereinander vollständig überein und auch weitgehend mit den Abbildungen bei Losina-Losinskaja (1926) und Michailov (1947).

Die Blattform ist breit-rund rhombisch, der *vesca*-Blattform etwas ähnlich, jedoch mit viel größeren Zähnen (Abb. 6 1823 und Abb. 1 1425). Die Blattfarbe ist dunkelgrün, und die Blätter sind von derber Konsistenz. Charakteristisch ist die wundervolle Herbstverfärbung des Laubes: gelb und feuerrot. Die Infloreszenzstiele sind im Durchschnitt gleichhoch wie die Rosette, mit Scheinfrüchten legen sie sich jedoch auf den Boden. Die Infloreszenzen sind wenigblütig. Die Petalen sind rein weiß und überdecken sich mehr oder weniger mit ihren Rändern (Abb. 7 b, 14a und c). Die Scheinfrüchte sind länglich-oval (Abb. 11 b) und werden bei Sonnenbestrahlung dunkelweinrot. Das Fruchtfleisch ist sehr saftig, beinahe wäßrig; der Geschmack ist kräftig, etwas säuerlich (Weingeschmack). Der Kelch ist postfloral an der Scheinbeere waagerecht abstehend. Die Nüßchen sind kaum

in Mulden eingesenkt. Die Scheinbeeren lösen sich schwer vom Blütenboden, und es bleibt beim Pflücken stets Fruchtfleisch daran zurück (wie bei *viridis*). Die Ausläufer sind sympodial aufgebaut und verzweigt.

So eindeutig die gegebene Schilderung von *Fr. orientalis* scheinen mag, so erstaunter ist man über die große genetische Variation, der man nach einer *orientalis* × *orientalis*-Kreuzung gegenübersteht. Sie unterstreicht die starke Heterozygotie der polyploiden wilden Arten. Besonders variieren Blattform (Abb. 1) und Fruchtform. Mannigfache Blattypen treten auf, so z. B. *viridis*-

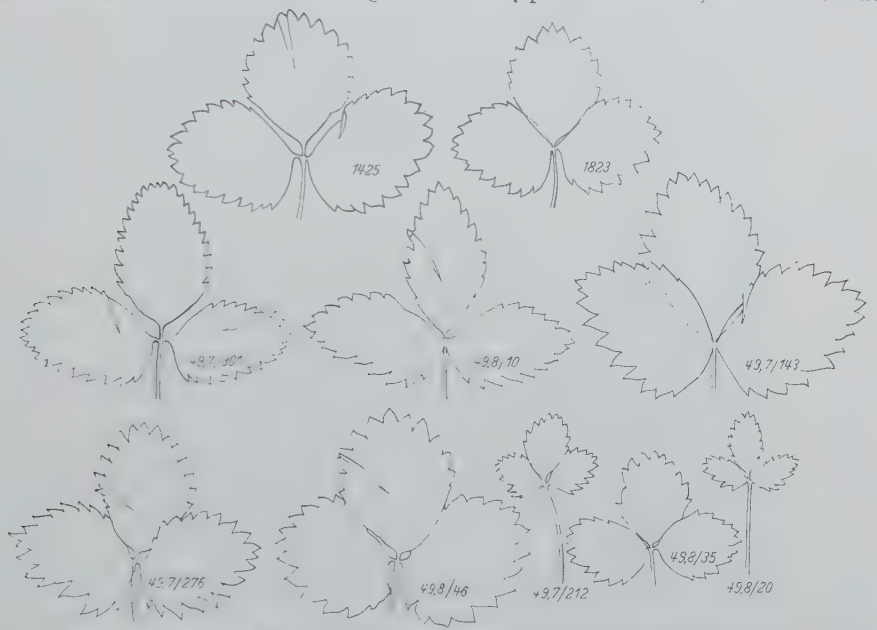


Abb. 1. Blätter von *orientalis* ♀ (*1425*); *orientalis* ♂ (*1823*) und von verschiedenen Typen, die aus dieser Kreuzung entstanden sind (auf $^1/_3$ der Originalgröße verkleinert).

ähnliche (Abb. 1, 49.7/301). Bezüglich der Fruchtform treten ganz runde (*vesca*-ähnlich) auf und auch sehr längliche. Die Kelchhaltung an der reifen Frucht variiert von waagerecht der Frucht aufliegend bis zurückgeschlagen (letzteres *vesca* ähnlich). Abgesehen von typischen Zwergpflanzen (Blätter davon in Abb. 1), die in einer Häufigkeit von ungefähr 3% auftraten, ist der Gesamthabitus, Blattfarbe und Blütenausbildung allgemein konstant, so daß man auch die in einigen Merkmalen abweichenden Typen ohne weiteres der Art *Fr. orientalis* zuordnen würde. Besonders muß noch auf die, wenn auch geringe, unterschiedliche Ausbildung der ♂-Geschlechtsorgane und der Receptaculi hingewiesen werden, weil sie die variable Ausbildung dieser Organe bei den Bastarden zu erklären ermöglicht. Es variieren besonders deutlich die Länge der Filamente und die Größe der Receptaculi. Da eine bestimmte Ausbildung an einer Pflanze, auch bei den Bastarden, über 2 Jahre konstant beobachtet wurde, kann man ohne weiteres annehmen, daß die unterschiedlichen Ausbildungen bei den einzelnen Pflanzen auf genetischen Unterschieden beruhen.

β) Geschlechtsausbildung und Histologie der Geschlechtsorgane. Die Pflanzen sind diözisch. Eine Prüfung des Geschlechtsverhältnisses erbrachte folgendes

Ergebnis: In der F_1 (415 Pflanzen) der Kreuzung *orientalis* 1425 × *orientalis* 1823 traten

253 ♀♀, 158 ♂♂ und 2 ☿☿ (und 3 fragliche ☿☿) auf.

Dieses Geschlechtsverhältnis ist in keiner Weise mit dem „mechanischen 1:1-Verhältnis" in Übereinstimmung zu bringen; bei der Besprechung der Ergebnisse werden Möglichkeiten der Erklärung für diese Abweichung angeführt werden.

Bei den ♀-Pflanzen sind in den Blüten Staminodien ausgebildet, deren Filamentlänge je Pflanze verschieden ist; im allgemeinen erreichen die Staminodien die Höhe des Receptaculums vor der Befruchtung der Nüßchen (Abb. 14c). Die Staubblätter der ♂-Blüten stehen in 3 Kreisen zu je 5 um ein wenig ausgebildetes Receptaculum, welches zum größten Teil von den Griffeln und Narben gebildet wird; das eigentliche Receptaculumgewebe und die Nüßchen sind nur in sehr geringem Maße ausgebildet (Abb. 14a). Die Antheren sind goldgelb gefärbt und prall mit Pollen angefüllt. Sie dehiszieren gut und enthalten rund 80% morphologisch gut aussehende Pollenkörner (Tabelle 15). Das Receptaculum stellt frühzeitig das Wachstum ein und vertrocknet.

1. Entwicklung an ♂-Pflanzen (Abb. 2a—c).

♂-Organe. In jungen, noch vollständig geschlossenen Knospen, in denen die Receptaculi noch sehr klein und nicht zu präparieren sind, sind die Pollenkörner schon frei, aber noch nicht von einer fertig ausgebildeten Exine umgeben. Die Tapetumschicht ist von der Pollensackwandung abgelöst und zum Teil schon in einzelne Zellen zerfallen. Eine Faserschicht ist noch nicht ausgebildet. In einer etwas größeren Knospe haben die Zellen der Faserschicht deutlich an Größe zugenommen, und Anfänge in der Ausbildung der Verdickungsleisten sind sichtbar. In gerade aufgeblühten Blüten haben die Staubblätter ihre volle Ausbildung erreicht. Die Scheidewände zwischen den Pollensäcken sind bis auf geringe Reste aufgelöst. Das Tapetum ist vollständig resorbiert, die Faserschicht ist sehr kräftig ausgebildet.

♀-Organe. Von besonderer Wichtigkeit war es festzustellen, wie und wieweit die Organe des entgegengesetzten, gehemmten Geschlechtes ausgebildet werden. Wie oben erwähnt, sind in einem Stadium, in dem schon freie Pollenkörner vorhanden sind, die Fruchtblätter erst im Stadium des Zusammenwachsens. In einer bereits offenen Blüte hatten die Samenanlagen noch nicht ihre campylotrope Lage eingenommen. Im Verlauf der Weiterentwicklung ist schon frühzeitig eine deutliche Hemmung der jungen Samenanlagen zu erkennen. Dies äußert sich darin, daß die Samenanlagen den Raum, der ihnen durch das Wachstum der Samen- und Fruchtschale zur Verfügung steht, nicht voll ausfüllen (Abb. 2a). Diese Diskrepanz vergrößert sich mit dem weiteren Anwachsen der Nüßchenschalen. Das Wachstum der Samenanlagen geht, abgesehen von der allgemeinen Hemmung, bis zu einer Größe, die Abb. 2a zeigt, verhältnismäßig normal. Es werden bis 5 Archesporzellen angelegt, von denen, wohl in den meisten Fällen nur die mittleren zur Reduktionsteilung schreiten (Abb. 2b). Gegenüber normalen Samenanlagen fehlt hier die große Zellproduktion subepidermaler Zellschichten, so daß die Archesporzellen nicht sehr tief im Nucellus liegen, meist nur 5—6 Zellschichten unter der Epidermis. Die Integumente erreichen in ihrem Wachstum nur die halbe Höhe des Nucellus. Jetzt ist der kritische Punkt der

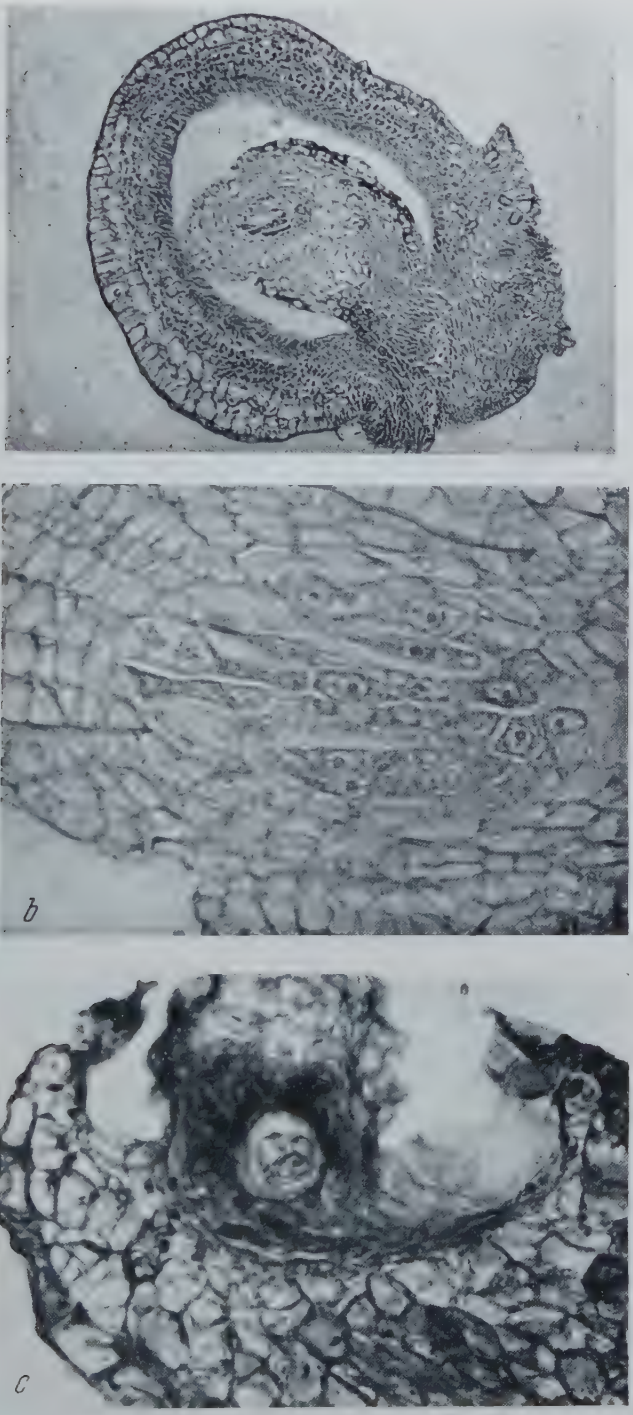


Abb. 2a—c. Mikrophotographien von histologischen Schnitten von *orientalis* ♂ [Vergr. 140mal (*a*); 600mal (*b* und *c*)]. Junge, deutlich gehemmte Samenanlage mit Archesporzellen (*a*); Archesporgewebe in Reduktionsteilung (*b*); degenerierte Samenanlage (*c*).

Ausbildung erreicht. Die einsetzende Degeneration betrifft sporogene Zellen wie auch Nucellus und Integument. In vielen Fällen kommt es gar nicht mehr zur Tetradenbildung; nie wurde eine Weiterentwicklung über die Tetraden hinaus beobachtet. In dem während der ganzen Zeit weiter gewachsenen Nüßchen ist nun die degenerierende Samenanlage als winziger, undefinierbarer Zellhaufen sichtbar (Abb. 2c), der sich deutlich von dem, wenigstens in diesem Stadium, noch nicht degenerierten Placentagewebe abhebt.

2. Entwicklung an ♀-Pflanzen (Abb. 3a und b).

♂-Organe. Hier kam es hauptsächlich darauf an, festzustellen, ob in den Staminodien überhaupt sporogenes Gewebe angelegt wird und wieweit seine Entwicklung geht. Staminodien aus fest geschlossenen Blütenknospen kamen als jüngste Stadien zur Untersuchung. Es zeigte sich, daß Pollenmutterzellen angelegt werden, und daß diese sogar mit den ersten Stadien der Prophase der Meiosis beginnen können (Abb. 3a). Dieses wurde in allen Blüten und allen Staminodien gefunden. Es handelt sich also nicht um eine zufällige Beobachtung in einem besonders gut entwickelten Staminodium. Die Entwicklung der PMZ in den einzelnen Pollensäcken eines Staminodiums ist zuweilen unterschiedlich, indem schon vorzeitig eine Degeneration einsetzen kann. In den weitaus meisten Zellen setzt die Degeneration aber erst im frühen Prophasestadium ein. Zuerst sind es hier und da einzelne Zellen, später ist eine völlige Auflösung des Inhalts der Pollensäcke zu beobachten. Die degenerierenden Zellen färben sich kräftig mit Safranin an (Abb. 3b). Die nach außen liegenden Zellschichten, die spätere Faserschicht und noch 1—3 weitere Zellschichten, bilden sich während der ersten Stadien relativ gut aus, da ihnen die Konkurrenz der sporogenen Zellen fehlt. Später entfaltet aber das Konnektivgewebe ein reges Wachstum und drückt förmlich mit seinen großlumigen Zellen das Degenerat der PMZ in allen 4 Ecken zusammen, wobei auch die äußeren Zellschichten (die Epidermis ausgenommen) vernichtet werden können. Nur in einer sehr ausgewachsenen Blüte (Embryosäcke vollständig ausgebildet), die relativ kräftige Staminodien besaß, konnten in diesen Faserschichten mit ausgebildeten Verdickungsleisten gesehen werden. Im allgemeinen führt die Entwicklung aber nicht so weit. Mit zunehmendem Alter kann die Degeneration weiter fortschreiten, oder es beginnt das Absterben der Staminodien durch Vertrocknen.

♀-Organe. Gegenüber den Nüßchen der ♂-Pflanzen zeichnen sich die Nüßchen der ♀♀ durch ihre größeren Dimensionen aus. In mehreren Fällen konnte beobachtet werden, daß die unteren Zellen der Tetradenreihen kräftiger sind und sich durch große Vakuolen gegenüber den anderen auszeichnen; sie sind wahrscheinlich die Embryosackmutterzellen. Zweikernige Embryosäcke wurden vielfach gesehen. In manchen Fällen gelangen auch 2 Embryosackmutterzellen zur Entwicklung. Meist ist dann aber einer der beiden Embryosäcke in seinem Wachstum gehemmt. Während der eine mit seiner Spitze bis an das Integument vorgewachsen ist, erreicht der zweite nur die halbe oder dreiviertel Länge des normal ausgebildeten Embryosackes. Trotz allem gelingt es auch gelegentlich 2 Embryosäcken sich vollständig normal zu entwickeln. Über das weitere Schicksal solcher Samenanlagen konnte nichts in Erfahrung gebracht werden. Käme es bei beiden zur Befruchtung und Embryobildung, so würde dies ein Fall von unechter

Polyembryonie sein. Die Samenanlagen, Nucellus und Integument, füllen bis auf einen geringen Zwischenraum in der Micropylengegend den Nüßchenraum vollständig aus. Die Schwierigkeit, ausgewachsene, befruchtete Nüßchen zu schneiden, konnte einige Male überwunden werden. Der Embryo hängt am Suspensor von der Micropyle mit den beiden Kotyledonen zur Chalaza hin.

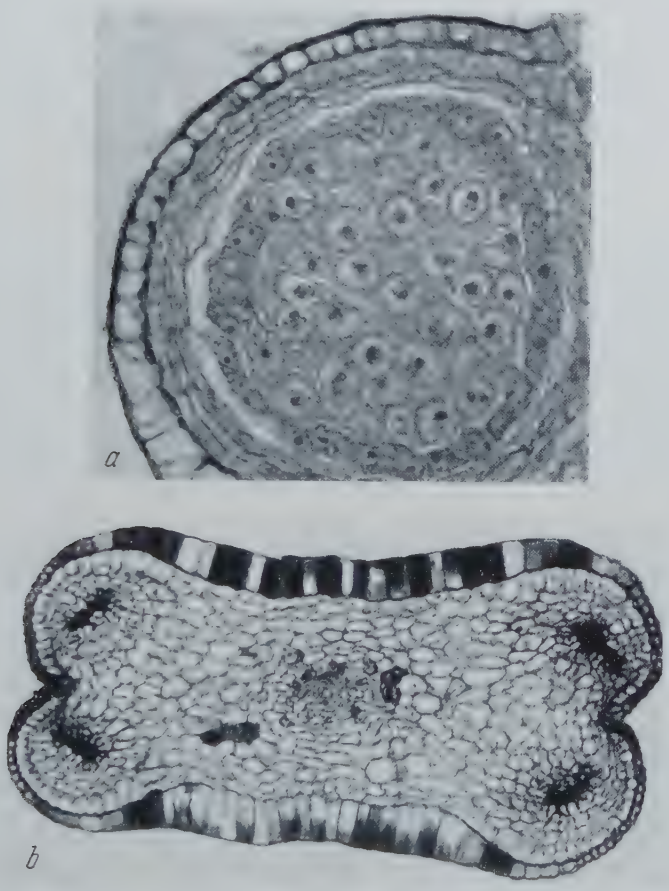


Abb. 3a u. b. Mikrophotographien von histologischen Schnitten von *orientalis* ♀ [Vergr. 600mal (*a*), 140mal (*b*)]. Pollensack mit PMZ in Prophasestadien der Reduktionsteilung (*a*); Staminodium nach der Degeneration des sporogenen Gewebes (*b*).

Eine Abweichung von der normalen Entwicklung ist das Auftreten eines Nüßchens mit 2 Samenanlagen. Beide Nucelli hatten einen Embryosack zur Ausbildung gebracht. Obwohl äußerst selten, scheint dies nicht so außergewöhnlich zu sein, denn auch Rudloff hat Nüßchen mit 2 Samenanlagen beobachtet (Rudloff 1930; vgl. diese Arbeit S. 393 und Abb. 12b).

γ) *Cytologie.* Die diploide Chromosomenzahl beträgt $2n = 28$, *Fr. orientalis* ist also tetraploid.

In den Diakinesen werden in fast 50% der Fälle normal 14 Bivalente gebildet (Abb. 4a). Daneben sind wechselnde Anzahlen von Tetravalenten,

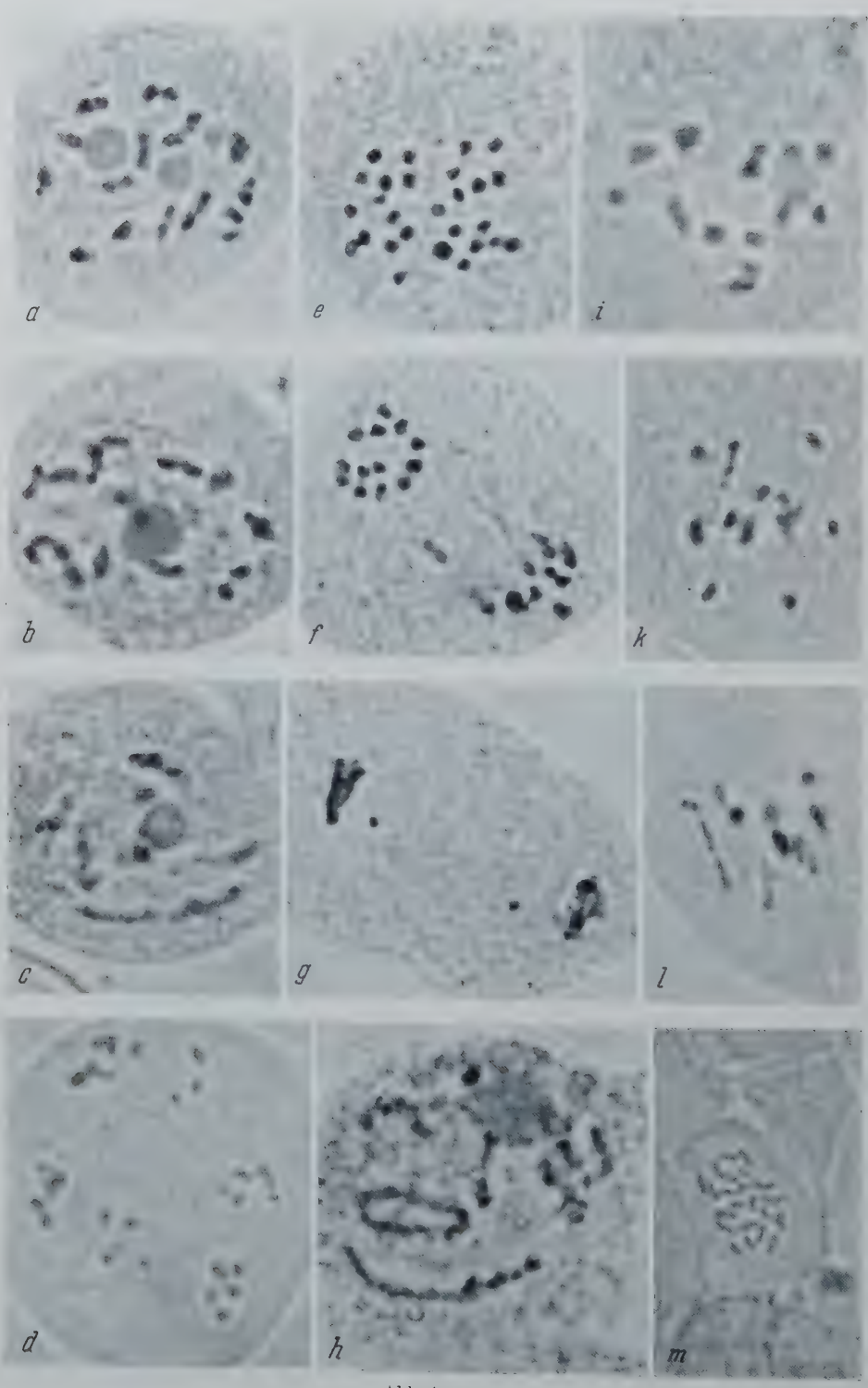


Abb. 4 a—m.

aneinanderhängen von 2 Bivalenten, beobachtet worden. In keinem Fall waren es aber mehr als 4 Tetravalente in einer Zelle. Es wurden im einzelnen beobachtet:

$6_{II} + 4_{IV}$	= 3
$7_{II}, 2_{IV}, 1_{VI}$	1
$8_{II} + 3_{IV}$	= 6
$10_{II} + 2_{IV}$	= 11
$10_{II} + 1_{VIII}$	= 1
$12_{II} + 1_{IV}$	= 40
14_{II}	= 52
	$n = 114$

Kettenbildungen aus mehr als 2 Bivalenten und andere Komplexbildungen (Schleifen und Ringe) wurden nur sehr selten gesehen (Abb. 4h). Zur Metaphase I scheinen sich die Sekundärpaarungen zu lösen, denn in Seitenansichten von Metaphasen I und frühen Anaphasen I konnten keinerlei Komplexbildungen beobachtet werden. Die Anaphasen I verlaufen bis auf eine geringe Störung, die in 15% der Zellen ($n = 308$) auftrat, normal. Die Störung besteht in einem Spättrennen eines Bivalents. Derselbe Vorgang wurde auch bei *vesca* und *viridis*, wenn auch in einer viel geringeren Häufigkeit, beobachtet. In frühen Anaphasen I liegt das ungetrennte Bivalent inmitten der zu beiden Polen hinstrebenden Chromosomen (Abb. 4e). In der Äquatorialebene bleibt es bis ins frühe Telophasestadium liegen (Abb. 4f). Nun trennt es sich, und beide Teile streben den Telophasekernen zu, von denen sie anscheinend noch aufgenommen werden (Abb. 4g). Metaphasen II, Anaphasen und Telophasen II verlaufen ohne irgendwelche Störungen und führen zur Bildung normaler Tetraden.

δ) Geographische Verbreitung. Korea, Mandschurei, an der Küste des Pazifik entlang über Wladiwostok, Ussurisches Gebiet, Nikolajewsk, Nelkan, Amginsk (Losina-Losinskaja); Kolyma-Gebiet (Komarov); Jakutsk, Wiljuisk, die Flußgebiete des Witim und der oberen Angara, Gov. Irkutsk mit dem westlichsten Verbreitungspunkt bei Tunkin, südlich Urga, nach Westen am Fluß Kerulen entlang bis in die Mandschurei (Los.-Los.) siehe Karte S. 404.

B. Beschreibung der Kreuzungen und ihrer Nachkommenschaften.

a) Fragaria vesca × *Fragaria orientalis.*

Diese Kreuzungen wurden 1948 mit Erfolg ausgeführt. Der Ansatz war für eine Artkreuzung relativ gut. Zwei Kreuzungsnummern erwiesen sich als reine *vesca* (Nr. 3 und 18 zum Teil), was auf Selbstbestäubung zurückgeführt wird (Tabelle 2). Es waren dies die ersten Kreuzungen, die überhaupt ausgeführt wurden. Bestäubungsfehler sind bei den weiteren Kreuzungen nie mehr vorgekommen. Ausgesät wurde noch im Herbst, die Samen keimten zu 27% (Tabelle 2); die Pflanzen überwinterten in Töpfen im Frühbeetkasten und wurden im Frühjahr ins Freiland verpflanzt. Ein geringer Teil der Samen keimte erst

Abb. 4a—m. Mikrophotographien (Vergr. etwa 2100mal). *orientalis* (*a, b, e—h*): Diakinese mit 14 Bivalenten (*a*); Diakinese mit 7 Biavalenten, 2 Tetravalenten (davon eines als Kette vorliegend) und einer Kette aus 3 Bivalenten (*b*); frühe Anaphase bis Telophase I mit verschiedenen Stadien eines spättrennenden Bivalents (*e—g*); Diakinese mit Ketten- und Ringbildung (*h*). F_1 *vesca* × *orientalis* (*c, i—l*): Diakinese mit Kettenbildung (*c*); Diakinese mit 12 Elementen (*i*); gestörte Anaphase I mit 5 Univalenten (*k*); Anaphase I mit einem Trivalent (*l*). F_1 *viridis* × *orientalis* (*d* und *m*): Telophase II mit je einer, in den Äquatorialebenen zurückgebliebenen, Chromosomenanhäufung (*h*); mitotische Metaphase mit 2n = 21 Chromosomen, nur mit Eisen(III)chlorid angefärbt (*m*). (*e—g, k* und *l* aus Staudt 1951).

Tabelle 2. *Übersicht über Kreuzungserfolge und Keimprozente der Kreuzung vesca × orientalis und reziprok.*

Kreuzungs-Nr.	Richtung	bestäubte Blüten	Nüßchen	pikiert
1948/3	Si 8 × 1823	2	75	64[1]
5	Si 8 × 1823	1	1	—
12	Si 8 × 1823	1	27	19
18	Si 8 × 1823	5	173 (65)	135[1] (19)
29	3048 × 1823	2	63	20
30	3048 × 1823	3	44	12
31	3048 × 1823	2	137	32
32	Si 8 × 1823	2	92	26
36	3048 × 1823	3	120	28
39	3048 × 1823	2	153	23
40	3048 × 1823	3	234	77
51	3048 × 1823	2	—	—
		$\Sigma = 28$	$\Sigma = 936$	$\Sigma = 256 = 27{,}3\%$
1948/4	3272 × Si 8	6	4	1
8	3272 × Si 8	3	—	—
15	3272 × Si 8	3	—	—
20	3272 × 3048	2	—	—
25	3272 × Si 8	2	—	—
46	1425 × Si 8	6	2	2
47	3272 × Si 8	1	—	—
52	3272 × Si 8	1	—	—
70	3296 × 3048	7	—	—
1949/23	1425 × Si 4	5	—	—
42	1425 × Si 4	1	—	—
1950/15	1425 × Si 4	5	—	—
		$\Sigma = 42$	$\Sigma = 6$	$\Sigma = 3 = 50\%$

[1] Die Nachkommenschaften dieser Kreuzungen erwiesen sich als Kreuzungsfehler, bei 18 nur zum Teil. Aus der Kreuzung Nr. 18 sind 19 Bastardpflanzen entstanden; *nur diese* sind in der Summe unten enthalten. Aus den übrigen Keimprozenten wurde eine dazugehörige Nüßchenanzahl von 65 errechnet.

in diesem Frühjahr (1950). Diese Pflanzen hatten in der Regel den Vorsprung ihrer schon im Herbst gekeimten Geschwister bis zum Jahresende aufgeholt.

α) *Morphologie.* Die F_1-Pflanzen sind uneinheitlich ausgebildet (Abb. 5c—h). Die Blattform kann wohl in den meisten Fällen als intermediär angesehen werden, insbesondere im Hinblick auf die stärker ausgebildete Zähnung des Blattrandes. Die Blattform variiert so stark, daß es nicht schwerfällt, *vesca*-ähnliche oder *orientalis*-ähnliche Formen zu finden (Abb. 6). Interessant ist es, daß manche Pflanzen im Jugendstadium nicht von den, im gleichen Stadium befindlichen, Bastarden aus der Kreuzung *viridis* × *orientalis* zu unterscheiden sind. Hinsichtlich der Blattfarbe treten deutlich frischgrüne Typen auf, die stark an das frischgrüne Laub von *vesca* erinnern. Die Mehrzahl der Pflanzen besitzt dunkelgrünes Laub von derber Konsistenz und deutlich eingesenkten Adern auf der Oberseite, alles Merkmale, die auf *orientalis* hinweisen. Die Höhe der Blattrosette ist sehr unterschiedlich. Es treten typische Zwergpflanzen auf, von denen es bis zu den normal ausgewachsenen Pflanzen alle Übergänge gibt. Diese Beobachtung ist in ähnlicher Weise bei vielen Nachkommenschaften aus den verschiedensten Artkreuzungen bei *Fragaria* gemacht worden (vgl. SCHIEMANN 1931 und ICHIJIMA 1930). Im Gegensatz zu diesen *genetischen* Zwergpflanzen treten auch in den hier

Abb. 5a—h. Pflanzen von *orientalis* ♂ (*a*); *vesca* (*b*) und verschiedenen Typen der F_1 *vesca* × *orientalis* (*c*—*h*).

zu besprechenden Nachkommenschaften Verzwergungen auf, wie wir sie von *vesca* auch aus Selbstungsnachkommenschaften kennen. Neben den Zwergpflanzen und schwächlichen Pflanzen (nicht lange lebensfähigen Kombinationen) haben sie einen großen Anteil an der erheblichen Sterblichkeit. Von 256 ursprünglich pikierten Pflanzen waren 1950 = 49, 1951 = 112 Pflanzen eingegangen (Tabelle 3, S. 381). Wie geschildert, neigt besonders *Fr. vesca* dazu, im Laufe ihrer Entwicklung zu verzwergen, und zwar ist dies einmal in den Sippen verschieden: es gibt Sippen, die auch nach mehrjähriger Kultur nicht verzwergt sind (z. B.

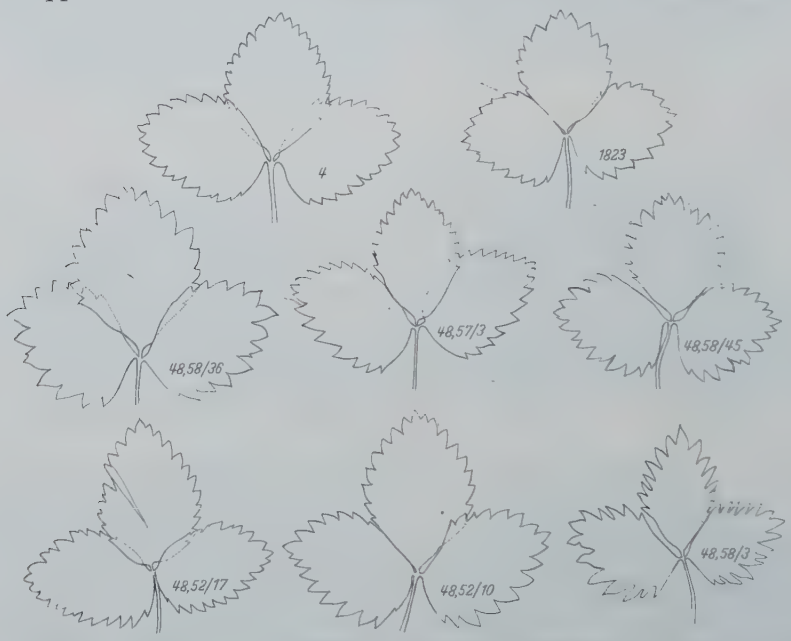


Abb. 6. Blätter von *vesca* (*Fr. 4*); *orientalis* ♂ (*1823*) und verschiedenen F_1-Typen der Kreuzung *vesca* × *orientalis* (auf $^1/_3$ verkleinert).

unsere Sippe Albanien), und zum anderen pflanzenspezifisch: in einer fast vollständig verzwergten Aussaat können einzelne „gesunde Pflanzen" vorhanden sein. Die Beobachtungen an den anderen Arten zeigen, daß neben *vesca* besonders *Fr. moschata* und ein wenig auch *Fr. orientalis* unter diesen Verzwergungserscheinungen zu leiden haben, *Fr. viridis* dagegen wird nicht von diesem Übel betroffen. Als mögliche Erklärung könnte angenommen werden, daß es verschiedene Sippen gibt, die sich in ihrer Lebensdauer unterscheiden[1]. Viele Sippen von *Fr. vesca* sind extrem einjährig. Sie verzwergen sofort nach der Reife der Scheinbeeren. Werden den Pflanzen während ihres Wachstums — besonders empfindlich sind die jungen Stadien (Pikier- und Auspflanzstadium) — ungünstige Lebensbedingungen geboten, wie Nährstoffmangel und Trockenheit, so erreichen sie bedeutend früher ein Altersstadium, in welchem sie zum Verzwergen neigen. Durch schlechte Lebensbedingungen wird also die Lebensdauer verkürzt. Die entwicklungsphysiologischen Vorgänge, die zum Verzwergen führen, sind völlig unbekannt.

[1] Eine Virusinfektion kann ebenfalls in Betracht gezogen werden.

Die Blütenstände sind teils gleich hoch wie die Rosette, teils darüber hinausgehend (Abb. 5e—h). Sie sind deutlich wenigerblütig als die von *vesca*, aber

Abb. 7a—h. Blüten von *vesca* (*a*); *orientalis* ♂ (*b*) und verschiedenen F_1-Typen der Kreuzung *vesca* × *orientalis* (*c—h*).

stärker mit Blüten besetzt als die von *orientalis*. Einige Pflanzen haben steif aufrecht stehende, weit über die Rosette hinausgehende Blütenstände (∼ *vesca*).

Die Blüten sind intermediär ausgebildet (Abb. 7c—h), die Blütendurchmesser schwanken stark von Pflanze zu Pflanze. Die Petalen sind frei oder überdecken sich mit ihren Rändern. Postfloral sind die Blüten nickend (~ *vesca*), und die Kelche stehen waagerecht ab, so daß man von oben auf die Kelchsterne herabschaut. Bei Scheinfruchtausbildung ist der Kelch ebenfalls waagerecht abstehend oder zurückgeschlagen (Abb. 8c). Die wenigen Scheinfrüchte, die ausgebildet wurden, sind relativ sehr klein und von länglich-konischer Form (Abb. 8c). Die Farbe ist intermediär. Das Fruchtfleisch ist saftig (~ *orientalis*) und hat einen deutlich *vesca*, Walderdbeer-ähnlichen Geschmack. Die Scheinfrüchte lösen sich schlecht vom Blütenboden (~ *orientalis*). Die Ausläufer sind sympodial verzweigt wie bei beiden Eltern.

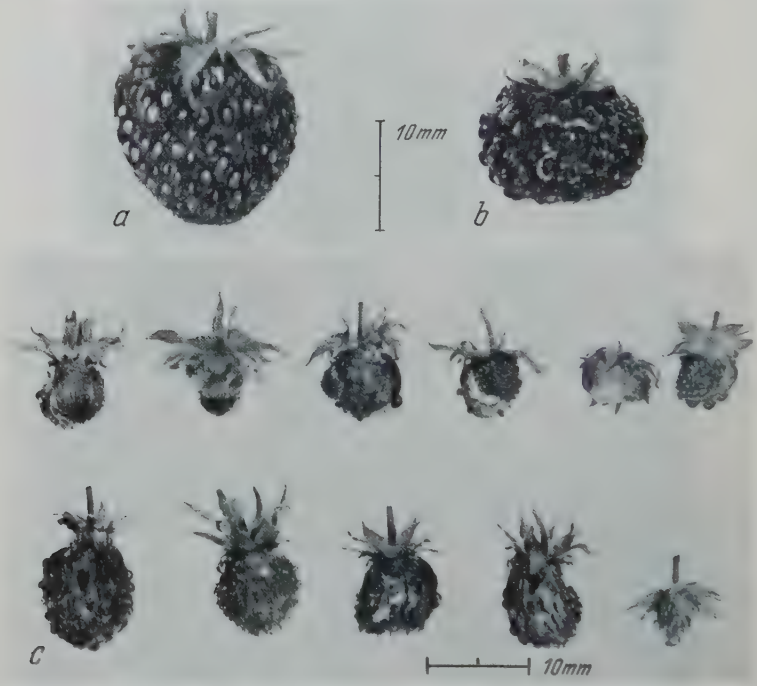


Abb. 8a—c. Scheinfrüchte von *orientalis* (*a*) und *vesca* (*b*); F_1 *vesca* × *orientalis* (*c*).

β) *Geschlechtsausbildung und Histologie der Geschlechtsorgane.* Grundsätzlich ist die Geschlechtsausbildung bei allen Pflanzen gleich. Es sind morphologische Zwitter. Die Ausbildung der Geschlechtsorgane im einzelnen weist dagegen von Pflanze zu Pflanze eine gewisse Variation auf, die über 2 Jahre konstant geblieben ist und somit erblich bedingt sein dürfte. Wie wir gesehen haben (S. 369), sind die verwendeten *orientalis*-Sippen stark heterozygot, womit die unterschiedliche Ausbildung der Bastarde ohne weiteres erklärt werden kann. Die Größe der Staubblätter variiert von fast staminodial bis zu normal aussehenden (Abb. 7c—h). Verschieden ist auch die Länge der Filamente. Die Farbe der Antheren ist entweder normal hellgelb (dies besonders bei den morphologisch besser aussehenden) oder dunkelgelb, hellbraun bis olivbraun. Einhergeht mit der verschiedenen Ausbildung der Antheren anscheinend auch

eine unterschiedliche Pollenausbildung. Während in den Antheren der meisten Pflanzen stets 100% schlechter, verklumpter Pollen ausgebildet wird, werden in einigen Pflanzen (die auch normal aussehende Antheren ausbilden) wenigstens einige morphologisch gut aussehende Pollenkörner gebildet, ungefähr 3—5%. Die Funktionsfähigkeit der Pollenkörner konnte in einer Rückkreuzung *vesca* ♀ × (*vesca* × *orientalis*) ♂ überprüft werden. Es wurden 2 Pflanzen erhalten, die beide $2n = 21$ Chromosomen besitzen.

Die Größe des Receptaculums schwankt ebenfalls in der Ausbildung (Abb. 7c bis h). Die Größe der Receptaculi schwankt in dem gleichen Rahmen wie es bei den Receptaculi der ♀-Pflanzen der Kreuzung *orientalis* × *orientalis* beobachtet worden ist (vgl. S. 369). Die Griffel sind normal ausgebildet, und die Narben scheiden Sekret ab. Jegliche Bestäubungen schlugen aber fehl.

Tabelle 3. *Blüh- und Ansatzverhältnisse der Kreuzung vesca × orientalis 1950 und 1951.*

	1950	1951
Gesamtpflanzen	216	216
geblüht	158[1]	102[2]
Anzahl der untersuchten Blüten	5845	4416
Blüten mit Ansatz	22	8
gleich	0,37%	0,18%
Pflanzen mit Anschwellungen und Ansatz	39	30
davon Pflanzen mit Ansatz	5	5
gleich (der geblühten)	3,1%	4,9%
Summe der geernteten Nüßchen	26	11

[1] 1950 haben 9 Pflanzen nicht geblüht; 49 Pflanzen waren eingegangen oder verzwergt.
[2] 1951 haben 2 Pflanzen nicht geblüht; 112 Pflanzen waren eingegangen.

Über die Blüh- und Ansatzverhältnisse gibt Tabelle 3 genaue Auskunft. 1950 zeigten 39 Pflanzen Anschwellungen oder Ansatz. Die Anschwellungen betrafen in vielen Fällen nur das Gewebe zwischen Blütenboden und dem eigentlichen Receptaculum, den Hals. Er schwillt an, wird auch rot, und das gesamte Receptaculum, an dem die Geschlechtsorgane vollständig verkümmert und geschwärzt sind, bildet die Spitze (Abb. 8c obere Reihe 2. von links; vgl. auch Schiemann 1931 S. 14 und Tafel 1). In anderen Fällen handelt es sich um ein Anwachsen des Receptaculums, welches dann oft saftig wird, sich rot färbt und von gutem Geschmack ist. An einigen solcher Scheinbeeren war Ansatz zu verzeichnen (s. Tabelle 3). 1950 waren es 22, 1951 8 Blüten, das sind gerade 0, 37% bzw. 0,18% der im ganzen kontrollierten Blüten. Alle Blüten waren frei abgeblüht. Im Höchstfall waren es jedoch nur 2 Nüßchen je Scheinbeere. Von den 1950 geernteten 26 Nüßchen haben 6 gekeimt und Pflanzen ergeben, die $2n = 28$ Chromosomen besitzen.

Die 2jährige Kontrolle der Ansatzverhältnisse ergab, daß 1950 sowie 1951 je 5 Pflanzen Ansatz hatten (Tabelle 4). Von diesen Pflanzen hatte nur eine in beiden Jahren Ansatz. Jeweils 4 andere wiesen 1950 und 1951 Ansatz auf. Auf Grund dieser Befunde könnte man geneigt sein anzunehmen, daß alle Pflanzen grundsätzlich die Möglichkeit haben Nüßchen normal auszubilden. Doch die Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens günstiger Genkombinationen in Ei- und Pollenzellen bei Selbstungen oder freiem Abblühen und mannigfacher

günstiger Umweltbedingungen ist derart gering, daß letzten Endes nur solche geringen Ansatzprozente vorhanden sind. Ein Anschwellen des Receptaculums ohne fertil ausgebildete Nüßchen, wie es vielfach geschehen ist, kann von den Wuchsstoffmengen ausgelöst werden, die bei der Bestäubung aus den Pollenschläuchen in das Nüßchengewebe und das angrenzende Receptaculumgewebe dringen können.

Histologische Untersuchungen. In den kleinsten Blüten, die zur Untersuchung kamen, befanden sich die Pollenmutterzellen schon in Reduktionsteilung, zum Teil waren schon Tetraden vorhanden. Das Tapetum war der Pollensackwandung noch anliegend und die Zellen zusammenhängend. Die Receptaculi sind in diesem Stadium kleine Höcker und haben staubfeine Nüßchen, mikroskopisch sind kräftige Samenanlagen sichtbar. In größeren Blüten sind die Pollenkörner fertig ausgebildet, Reste von der Tapetumschicht sind noch vorhanden. Die beiden Pollensäcke sind noch durch eine Scheidewand getrennt, die normal angelegte Faserschicht ist nicht weiter ausgebildet. Interessant ist nun, daß bei einigen Pflanzen eine völlig normale Ausbildung der Antheren realisiert ist. In offenen Blüten ist die Faserschicht gut ausgebildet, die Scheidewände zwischen den Pollensäcken sind bis auf geringe Reste aufgelöst, und die Antheren können sich normal öffnen. Bei der Mehrzahl der Pflanzen dagegen ist die Entwicklung stark gehemmt. Es zeigen sich schon frühzeitig Eindellungen der Pollensäcke. Dadurch wird der noch junge Pollen immer mehr zusammengedrückt und beginnt zu degenerieren (Abb. 12c). Es unterbleibt die normale Ausbildung der Faserschicht und die Auflösung der Scheidewände zwischen den Pollensäcken. Durch weiteres Eindellen werden die Gewebe der Pollensäcke vollständig zerquetscht und sterben ab, ebenfalls die Zwischen- und Faserschicht. Wichtig ist die Beobachtung, daß neben diesen degenerierenden Antheren in der gleichen Blüte oder Pflanze auch einzelne weitgehend normal ausgebildete Antheren mit guter Faserschicht, aufgelösten Scheidewänden und ohne jegliche Eindellungen vorkommen können.

Tabelle 4. *Gegenüberstellung der Pflanzen mit Ansatz der Kreuzung vesca × orientalis 1950 und 1951.*

Pflanzen-Nr.	1950	1951
48,53/2	—	+
54/20	+	—
54/30	—	+
55/4	+	+
55/14	—	+
56/12	+	—
56/13	+	—
56/9	+	—
57/14	—	+

Zusammenfassung:
1950 und 1951 = 1 Pflanze
1950 = 4 Pflanzen
1951 = 4 Pflanzen

Die Entwicklung der Samenanlagen beginnt erst zu einem Zeitpunkt, in dem die ♂-Geschlechtszellen sich bereits zur Reduktionsteilung anschicken. Abb. 12d zeigt einen kleinen Nucellushöcker mit einem bis fast zur halben Höhe des Nucellus reichenden Integument. Unter einer zweischichtigen Epidermis sind hier 3 längliche Zellen mit deutlich sichtbaren und selektiv stärker färbbaren Kernen zu sehen, die sporogenen Zellen. Es werden meist bis zu 5 Archesporzellen angelegt. Zwischen Epidermis und sporogenen Zellen befinden sich 1—2 Zellschichten, die die gesamten Archesporzellen umschließen und sich später durch ihre Färbbarkeit und Kerngrößen von den umgebenden Epidermis- und Nucelluszellen deutlich abheben. Es wird angenommen, daß diese Zellen eine ähnliche Aufgabe haben wie die Tapetumzellen gegenüber den Pollenmutterzellen. In

der weiteren Entwicklung ist jetzt eine deutliche Hemmung sichtbar. Während die Fruchtschale ihr normales Wachstum fortsetzt, beginnt der Nucellus und auch das Integument das Wachstum zu verlangsamen. In den meisten Fällen wird die Reduktionsteilung durchgeführt. Ein Anschwellen einzelner Tetradenzellen konnte beobachtet werden, und in wenigen Fällen wurden auch zweikernige Embryosäcke gesehen. Nun setzt die Degeneration ein. Es erfolgt ein Absterben und Auflösen der Zellen der Samenanlagen. Die Archesporzellen und deren Abkömmlinge zeigen dabei meist ein besonderes Verhalten, indem sie verhältnismäßig noch lange sichtbar sind. Sie werden erst später von der Autolyse betroffen, färben sich intensiv an und sind oft wie aufgeblasen oder nehmen andere abnorme Formen an. Letzten Endes ist der gesamte Nucellus degeneriert, färbt sich stark an und ist verschwindend klein. In einem etwas größeren Nucellus, dessen Gewebe bereits im Degenerieren war, wurde eine große, etwas verbildete Zelle gefunden, die mit einem 8kernigen Embryosack verglichen werden kann. Eine länglich ovale Zelle, in der deutlich in einem Schnitt 3 Antipoden, im nächsten ein Endospermkern und Eizelle gesehen werden konnte. Man hatte den Eindruck, einen stark gestauchten Embryosack vor sich zu haben. Es darf also angenommen werden, daß ein normaler Embryosack ausgebildet werden kann, der, wenn er sich in einem normalen, ungehemmten Nucellus entwickeln kann, wahrscheinlich auch befruchtungsfähig ist. Nur so lassen sich die wenigen fertilen Nüßchen in dieser Kreuzungsnachkommenschaft erklären. Es war sehr unwahrscheinlich, daß bei dem geringen Prozentsatz von 0,37 bzw. 0,18% Ansatz, bezogen auf die Gesamtblütenzahl, ein normal ausgebildeter Embryosack unter das Messer des Mikrotoms geraten würde.

Zusammenfassend kann über die Geschlechtsausbildung der Bastarde aus der Kreuzung *vesca* × *orientalis* folgendes gesagt werden. Die morphologische Ausbildung der Geschlechtsorgane ist ohne Zweifel zwittrig. In der einzelnen Ausbildung der Geschlechtsorgane, besonders der Staubblätter, sind Unterschiede vorhanden, die nicht zufällig sind, sondern auf genetischen Unterschieden zwischen den einzelnen Pflanzen beruhen müssen. Die Korrelation zwischen schlechter Ausbildung der Antheren und unbedingt 100% schlechtem Pollen und weitgehend normaler Ausbildung der Antheren und wenigen guten Pollenkörnern ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß auch die wenigen gut ausgebildeten Pollenkörner bei schlechter Ausbildung der Antheren, Eindellung der Pollensäcke und Zerdrücken des Inhalts, mit vernichtet werden. Trotz der unterschiedlichen Ausbildung der Geschlechtsorgane darf angenommen werden, daß alle Pflanzen grundsätzlich gleich geschlechtlich determiniert sind. Mit dieser Annahme stimmt auch die spontane Ansatzbildung überein. Die ♀-Tendenz der Pflanzen ist aber der ♂ an Stärke unterlegen. Die physiologische Geschlechtsausbildung der Bastarde ist also: männlich mit zwittriger Tendenz (vielleicht auch zwittrig mit starker männlicher Tendenz).

γ) *Cytologie.* Die diploide Chromosomenzahl beträgt bei allen Pflanzen $2n = 21$. Charakteristisch für Bastardmeiosen sind Antheren, in denen eine Fülle von verschiedenen Stadien enthalten sind, z. B. von Metaphasen I bis zu Tetradenstadien. Auf der ungeraden Chromosomenzahl beruht der gestörte Ablauf der Meiosisstadien. Hierauf hat unter anderen besonders Renner (1929, S. 99) hingewiesen.

In Prophasen sind in mehreren Fällen deutlich Paarungen beobachtet worden. Die Diakinesen waren sehr schwer zu analysieren, meist waren es 13 oder 14 Elemente, aber auch 10, 11 oder 12 (Abb. 4c und i, S. 374). Es wird eine wechselnde Anzahl von Univalenten gebildet, die in Meta- und Anaphasen I zu beiden Seiten der Äquatorialebene im Kernraum verstreut liegen und unregelmäßig auf die beiden Kerne verteilt werden. Die Anzahl der Univalenten betrug 3—7 (siehe Abb. 4k), besonders häufig 5. Maximal können 4 Trivalente gebildet werden. Die Trivalente können sehr gut in Meta- und Anaphasen I gesehen werden; die Chromosomen hängen wie an einer Kette aneinander. Zwei Trivalente wurden nur einige Male deutlich gesehen, oft dagegen 1 Trivalent (Abb. 4l). Die Univalenten werden in der Regel in die beiden telophasischen Kerne aufgenommen. Einige Male trat Spättrennen eines, in einem Fall auch von 2 Bivalenten auf. In den Anaphasen II treten in den meisten Fällen wiederum Störungen auf. Im Gegensatz zu den Anaphasen I bleiben hier die „ausgesonderten" Chromosomen in den Äquatorialebenen liegen und bilden neben den vier normalen mehrere verschieden große Chromatinhaufen. Die unregelmäßige Verteilung der Chromosomen und das Liegenbleiben einiger Chromosomen im Kernraum spiegelt sich in dem Ergebnis einer Auszählung der Tetradenzellen wieder (Tabelle 5). Danach resultieren Tetraden bis Heptaden, in denen die Zellen, wahrscheinlich je nach dem Gehalt an Chromosomen, verschieden groß sein können.

Tabelle 5. *Auszählung von Tetradenzellen der Kreuzung vesca × orientalis.*

große Zellen	+	kleine Zellen	Anzahl	=	%
2		2	1		0,9
3		1	15		13,8
3		2	5		4,3
3		3	2		1,9
3		4	1		0,9
4		0	26		24,0
4		1	50		46,3
4		2	7		6,4
4		3	1		0,9

$n = 108$

b) Fragaria orientalis × Fragaria vesca.

Im allgemeinen wird angenommen, daß bei Kreuzungen zwischen 2 verschiedenchromosomigen Pflanzen die Kreuzung, in der die höherchromosomige Pflanze als Mutter verwendet wird, mehr Aussicht auf Erfolg hat. Diese Beobachtung konnte bei den hier zu besprechenden Kreuzungen nicht bestätigt werden. Ebensowenig kann dies von der Kreuzung *orientalis × viridis* gesagt werden.

Aus der Kreuzung *orientalis × vesca* wurden 1948 nur 6 Nüßchen geerntet (Tabelle 2, S. 376). Alle weiteren Kreuzungsversuche (1949 und 1950) schlugen fehl. Von den im Herbst 1948 ausgesäten 6 Nüßchen keimten 2 sofort, 1 weiteres im nächsten Frühjahr.

α) *Morphologie.* Das im Frühjahr gekeimte Pflänzchen (48, 31/1) fiel schon in der Saatschale durch die großen Ausmaße der Kotyledonen und des Stengels auf, was sich aber später verwuchs. Alle 3 Pflanzen fielen durch ihr langsames Wachstum auf. Sie besaßen im jugendlichen Stadium auffallend rundliche Blätter. Im ausgewachsenen Zustand zeigte es sich, daß 2 Pflanzen morphologisch übereinstimmten. Beide Pflanzen sind ♂♂ und besitzen länglich-rhombische Blätter. Die Blüten sind groß, die Petalen rein weiß und überdecken sich mit ihren Rändern. Einen abweichenden Typ repräsentiert die Pflanze 48, 31/1, ein ♀. Die Blätter sind rundlich-rhombisch und die einzelnen Blättchen, beson-

ders das Mittelblättchen, sind lang gestielt. 1950 kam sie, wie auch die beiden anderen Pflanzen, das erste Mal zur Blüte. Die Blütenstände stehen steif aufrecht, sind wenigblütig und ungefähr so hoch wie die Rosette. Die Blüten sind klein und deutlich etwas an *vesca* erinnernd. Die Petalen sind weiß und überdecken sich ± mit ihren Rändern. Postfloral ist der Kelch stark zurückgeschlagen. Die Form der Scheinbeeren ist *vesca*-ähnlich (vgl. STAUDT 1951, Abb. 2b); sie sind weinrot gefärbt, die Nüßchen sind ± sitzend. Die Scheinbeeren lösen sich schwer vom Kelchboden.

β) Geschlechtsausbildung. Die Receptaculi der ♀-Pflanze sind kräftig ausgebildet und bilden stets normale Scheinbeeren. Der Ansatz ist bei freiem Abblühen und auch bei Kreuzungen sehr gut. Die Ansatzverhältnisse wurden an mehreren Klonpflanzen beobachtet. Die ♂-Geschlechtsorgane sind staminodial ausgebildet, so wie wir es bei den ♀♀ von *Fr. orientalis* kennengelernt haben. Die beiden ♂♂ bilden große, kräftige Antheren aus, die bei Reife goldgelb gefärbt sind, gut dehiszieren und bis zu 85% morphologisch gut aussehenden Pollen entlassen. F_2en und Rückkreuzungen mit diesem Pollen waren erfolgreich. Die Receptaculi stellen frühzeitig ihr Wachstum ein und sterben ab.

γ) Cytologie. Die cytologische Untersuchung der Mitosen aller 3 Pflanzen ergab $2n = 28$ Chromosomen. Damit schienen alle Sonderlichkeiten dieser Pflanzen ihre Erklärung zu finden. Sie sind entstanden zu denken aus normal reduzierten *orientalis*-Eizellen und unreduzierten *vesca*-Gameten. Die Meiosen, untersucht bei beiden ♂♂, verlaufen völlig normal. In den Diakinesen werden regelmäßig 14 Bivalente gebildet. Alle weiteren Stadien verlaufen ohne jegliche Störungen. Nur einige Male wurden 1 oder 2 Bivalente beim Spättrennen in Telophasen I beobachtet. Auf Grund dieser Befunde kann *Fr. orientalis* ohne weiteres als *autotetraploid* bezeichnet werden.

Es sind indessen Bedenken aufgetreten, die die eben beschriebene Entstehungsweise der Bastarde in Zweifel ziehen. Obwohl dies, wenigstens für die ♀-Pflanze, denn diese besitzt deutliche *vesca*-Merkmale, zum Teil in intermediärer Ausbildung, sehr unwahrscheinlich ist, sind Versuche eingeleitet worden, die diese Fragen klären sollen.

c) Fragaria viridis × *Fragaria orientalis.*

Die Kreuzungen in dieser Richtung waren sehr erfolgreich. Von 33 bestäubten Blüten wurden 2330 Nüßchen geerntet, von denen jedoch nur 523, also 22,4%, keimten und pikiert worden sind (Tabelle 6, S. 387). Die Pflanzen wurden, wie auf S. 366 geschildert, im Frühjahr 1949 ins Freiland verpflanzt. Im gleichen Jahr zeigten sie eine gute vegetative Entwicklung, man kann sogar von einer Heterosiswirkung sprechen. Einzelne Pflanzen brachten im Spätherbst noch Blüten hervor, die jedoch nicht mehr ausgewertet werden konnten. Im Frühsommer 1950 kam der gesamte Pflanzenbestand das erstemal normal zur Blüte. Eine wiederholte Aufnahme der Blühverhältnisse wurde 1951 durchgeführt. Einige Pflanzen, die in beiden Sommern nicht blühten, entwickelten ihre Blüten meist im Herbst. 10 Pflanzen haben in den 3 Jahren nicht einmal geblüht.

Im Gegensatz zu der analogen Kreuzung *vesca* × *orientalis* weisen die Pflanzen eine erstaunlich gute, zeitlich nicht begrenzte Wüchsigkeit auf. Es läßt sich

damit zeigen, daß die Verzwergungserscheinungen der *vesca* × *orientalis*-Bastarde auf die *vesca*-Erbanlagen zurückgeführt werden können.

Abb. 9 a—f. Pflanzen von *viridis* (*a*); *orientalis* ♂ (*b*) und verschiedenen Typen der F_1 *viridis* × *orientalis* (*c—f*).

α) *Morphologie.* Im großen und ganzen erscheint ein Bestand an Bastardpflanzen (Abb. 9 c—f) verhältnismäßig einheitlich. Dies ist hauptsächlich durch die einheitliche dunkelgrüne Blattfarbe bedingt. Im Herbst zeigt das Laub eine den reinen *orientalis*-Pflanzen ähnliche wundervolle leuchtend rote und gelbe Blattverfärbung. Die Blattform variiert stark (Abb. 10), obgleich überall

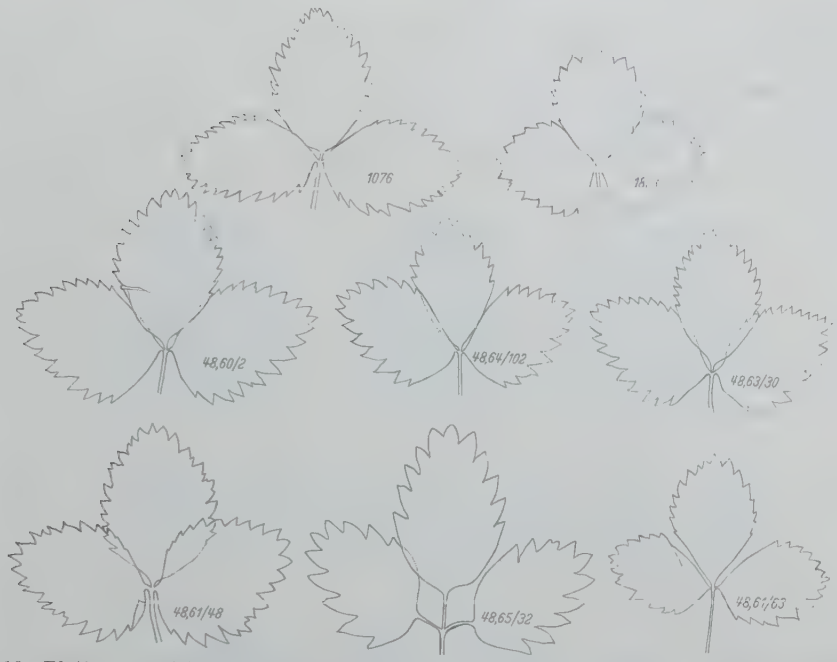


Abb. 10. Blätter von *viridis* (*1076*); *orientalis* (*1823*) und von verschiedenen F_1-Typen der Kreuzung *viridis* × *orientalis* (auf $^1/_3$ verkleinert).

Tabelle 6. *Übersicht über Kreuzungserfolge und Keimprozente der Kreuzung viridis × orientalis und reziprok.*

Kreuzungs-Nr.	Richtung	bestäubte Blüten	Nüßchen	pikiert
1948/13	1076 × 1823	2	293	17
14	1076 × 1823	2	252	104
22	1076 × 1823	3	168	40
23	1076 × 1823	3	320	72
26	1076 × 1823	3	278	110
27	1076 × 1823	3	193	59
28	1076 × 1823	3	247	80
41	804 × 1823	3	167	16
45	1076 × 1823	1	123	6
53	804 × 1823	5	148	5
54	804 × 1823	5	141	14
		$\Sigma = 33$	$\Sigma = 2330$	$\Sigma = 523 = 22{,}4\,\%$
1948/17	3272 × 1076	2	15	1
19	3272 × 1076	1	2	—
21	3272 × 1076	2	15	—
24	3272 × 1076	2	6	—
44	3272 × 804	2	2	—
48	3296 × 804	4	32	1
49	3296 × 804	3	19	1
65	3296 × 1076	4	16	—
1949/34	1425 × 1076	2	9	7
		$\Sigma = 22$	$\Sigma = 116$	$\Sigma = 10 = 8{,}6\,\%$

das längliche Blatt von *viridis* prävaliert. Oft sind am unteren Teil der Blattstiele Stipeln ausgebildet, wie sie bei *viridis* manchmal vorkommen. Die Höhe

der Rosetten ist unterschiedlich, im allgemeinen sind sie aber sehr groß und kräftig (Heterosiswirkung). Die Blütenstände sind ungefähr gleich hoch wie die Rosetten oder überragen sie. Die Blüten sind intermediär ausgebildet (Abb. 14d bis h S. 397), die Petalen überdecken sich mit ihren Rändern; beim Aufblühen sind die Blüten schüsselförmig. Ein ganz charakteristisches Merkmal von *viridis*

Abb. 11a—c. Scheinfrüchte von *viridis* (*a*); *orientalis* (*b*); F_1 *viridis* × *orientalis* (*c*).

besitzen die Bastarde im Knospenstadium, die Petalen sind grüngelblich bis weiß gefärbt. Diese Färbung wird während der ersten Zeit des Blühens beibehalten. Später werden sie fast rein weiß. Nach dem Verblühen schlagen die Kelchblätter nach innen ein (auf jeden Fall der Innenkelch); wenn Scheinfrüchte ausgebildet werden, liegen die Kelchblätter diesen an (Abb. 11c). Auch die Form der Scheinfrüchte ist *viridis*-ähnlich (Abb. 11c). Da die Ausbildung der Scheinfrüchte in starkem Maße von der Zahl der gut ausgebildeten Nüßchen abhängig ist, ist es schwer, darüber genaues auszusagen. Der Blütenboden und die Befestigung der Scheinfrüchte ist *orientalis*-ähnlich. Es fehlt der am Stiel nach oben gewölbte

Blütenboden, wie er bei *viridis* vorhanden ist. Die Nüßchen sind ± eingesenkt. Die Ausläufer sind sympodial verzweigt; sympodial ist also dominant.

β) Geschlechtsausbildung und Histologie der Geschlechtsorgane. Die morphologische Geschlechtsausbildung ist wie bei den F_1-Bastarden *vesca* × *orientalis* zwittrig (Abb. 14d—h). Die Staubblätter sind im großen gesehen bei allen Pflanzen gleich ausgebildet. Sie sind kräftig und bei der Reife goldgelb gefärbt und prall mit Pollen gefüllt. Bei Trockenheit dehiszieren sie gut und entlassen den trockenen Pollen. Geringe Größenunterschiede der Antheren und der Filamentlängen konnten beobachtet werden. Größenunterschiede treten aber auch schon innerhalb einer Pflanze auf, so daß dieser Variabilität keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Die Pollenuntersuchungen an 68 Pflanzen haben zu dem Ergebnis geführt (s. Tabelle 7), daß man mit einer durchschnittlichen Pollenfertilität von 15% morphologisch gut aussehenden Pollenkörnern[1] rechnen kann.

Die Prozentzahlen für gute Pollenkörner je Pflanze schwanken zwischen 1,9 und 48,4% mit einem maximalen Vorkommen bei 15—20%. Man darf aber die einzelnen Prozentzahlen nicht zu genau nehmen, da sicherlich viele reine Zufallswerte sind, obwohl bei allen Zählungen besonders darauf geachtet wurde, daß Pollen aus verschiedenen Blüten und bei gleichen Blüten von verschiedenen Antheren geprüft wurde. Mehrere Pollenzählungen wurden im 2. Beobachtungsjahr wiederholt. Dabei zeigte sich in einigen Fällen Übereinstimmung, in anderen Fällen zeigten sich aber auch erhebliche Unterschiede. Wenn man bedenkt, daß die Qualität der Pollenkörner durch ungünstige Klimaeinflüsse sehr leicht vermindert werden kann, so wird man ohne weiteres mit einer gewissen Unsicherheit der jeweiligen Werte rechnen.

Pollenkeimversuche zur Überprüfung der physiologischen Tauglichkeit der Pollenkörner ergaben positive Ergebnisse. Weiterhin gelang es mit den Bastardpollen Rückkreuzungen durchzuführen. Eine *viridis* × (*viridis* × *orientalis*)-Pflanze besitzt $2n = 21$ Chromosomen. Die Rückkreuzung mit *Fr. orientalis* als ♀ konnte erst 1951 ausgeführt werden.

Die Receptaculi sind im allgemeinen kräftig ausgebildet, wenn auch eine gewisse Variabilität in der Größe festgestellt werden kann. Da selbst an einer Pflanze die Receptaculi in ihrer Ausbildung sehr unterschiedlich sein können, besonders sei auf die Größenabnahme in den oberen Blüten der Blütenstände hingewiesen, ist es nicht möglich gewesen, die Pflanzen irgendwie zu klassifizieren. Einige Pflanzen besaßen aber unbedingt größere Receptaculi als der Durchschnitt.

Von den Pflanzen, die 1950 geblüht haben, hatten 41 Pflanzen Scheinbeeren oder angeschwollene Receptaculi ausgebildet. Von diesen wiesen nur 36 Pflanzen, also nur 8% der im ganzen geblühten Pflanzen, Scheinbeeren mit Ansatz auf

[1] Unter morphologisch gut aussehenden Pollenkörnern werden solche verstanden, die normal rund aussehen, eine normale Größe besitzen und deren Inhalt homogen gekörnt und normal gelb gefärbt ist. Die schlecht aussehenden Pollenkörner lassen sich relativ leicht von den guten unterscheiden, wobei nicht unbedingt feststeht, ob alle morphologisch gut aussehenden Pollenkörner auch physiologisch tauglich sind. Die Membranen der schlechten Pollenkörner sind verquollen, und der Inhalt ist mehr oder weniger degeneriert, oder sie sind völlig inhaltslos.

Tabelle 7. *Pollenfertilität von Einzelpflanzen der Kreuzung viridis × orientalis (gut = morphologisch gut aussehende Pollenkörner).*

Pflanzen-Nr.	*n*	gut	% gut	Pflanzen-Nr.	*n*	gut	% gut
48,61/ 2	739	125	16,9	48,64/25	1343	104	7,7
4	612	98	16,0	26	487	73	14,9
14	702	119	16,9	29	598	80	13,3
21	731	110	15,0	33	699	75	10,7
32	886	134	15,1	37	384	71	18,4
33	927	164	17,6	40	480	44	9,1
39	863	110	12,7	46	116	28	24,1
57	868	121	13,9	54	1626	252	15,4
72	673	162	24,0	56	520	106	20,3
82	1073	119	11,0	63	642	118	18,3
86	847	126	14,8	65	331	45	13,5
87	874	48	5,4	85	259	66	25,4
90	863	264	30,5	103	772	133	17,2
92	741	212	28,6	65/ 5	517	80	15,4
93	558	106	19,9	18	418	22	5,2
97	551	46	8,3	24	303	53	17,4
62/ 8	488	113	23,1	25	1184	178	15,0
10	831	129	15,5	66/ 8	767	66	8,6
25	589	83	14,0	14	256	18	7,0
28	637	48	7,5	15	361	66	18,2
29	1681	427	25,4	25	283	32	11,3
58	344	68	19,7	29	214	18	8,4
63/ 3	463	43	9,2	42	522	61	11,6
4	447	48	10,7	52	312	49	15,7
15	308	41	13,3	67/ 3	508	40	7,8
17	235	12	5,1	12	468	99	21,1
18	627	101	16,1	14	411	38	9,2
20	377	14	3,7	68/ 4	471	70	14,8
23	258	125	48,4	69/ 1	553	73	13,2
62	535	110	20,5	4	552	11	1,9
64/ 4	1563	209	13,3	5	607	260	42,8
8	424	158	37,2	70/ 2	790	95	12,0
11	607	211	34,7	3	493	77	15,6
48,64/21	447	143	31,9	9	470	67	14,2
				$n = 68$	$\Sigma = 42084$	$\Sigma = 6715$	15,9% i.D.

Tabelle 8. *Blüh- und Ansatzverhältnisse der Kreuzung viridis × orientalis 1950 und 1951.*

	1950	1951
Gesamtpflanzen	468	468
geblüht	446[1]	422[2]
Anzahl der untersuchten Blüten .	27820	19848
Blüten mit Ansatz	339	137
gleich	1,21%	0,69%
Pflanzen mit Anschwellungen und Ansatz	41	54
davon Pflanzen mit Ansatz . . .	36	37
gleich (der geblühten)	8,0%	8,7%
Summe der geernteten Nüßchen .	1273	318

[1] 1950 haben 17 Pflanzen nicht geblüht, 5 waren eingegangen.

[2] 1951 haben 40 Pflanzen nicht geblüht, 6 waren eingegangen. 10 Pflanzen haben also 1950 und 1951 nicht geblüht.

(Tabelle 8, S. 390). Aber auch an diesen Pflanzen war der Ansatz sehr sporadisch. Dies bezieht sich einmal auf das Verhältnis von Ansatzblüten zu Nichtansatzblüten an einer Pflanze und zum anderen auf den geringen Ansatz wirklich keimfähiger Nüßchen an einer Scheinbeere. In Tabelle 9 sind für die Ansatzpflanzen 1950 die Gesamtblütenanzahl, Scheinbeerenausbildungen und die Anzahl der Nüßchen je Pflanze angegeben. Die letzte Spalte enthält die Anzahl der pikierten Pflanzen, woraus entnommen werden kann, daß die Keimung der Nüßchen von den frei abgeblühten, triploiden Pflanzen relativ gut war[1]. In Tabelle 10, S. 392 sind für einige Bastardpflanzen die Häufigkeiten von Scheinbeeren mit bestimmten Nüßchenanzahlen zusammengestellt. Zum Vergleich sind einige Auszählungen von Nüßchen je Scheinbeere von beiden Elternarten angegeben. Erst durch diesen Vergleich wird deutlich, wie gering der Ansatz bei den Bastardpflanzen ist.

Tabelle 9. *Ansatzverhältnisse einzelner F_1-Pflanzen der Kreuzung viridis × orientalis 1950.*

Pflanzen-Nr.	Blüten	Anschwellungen	Ansatz-Beeren	Nüßchen Σ	Pflanzen 1951 pikiert
48,61/13	40	1	1	10	5
34	39	1	—	—	—
38	49	2	2	3	1
39	85	13	13	15	3
53	98	9	8	28	8
73	54	1	1	1	—
76	60	10	8	12	6
88	58	3	—	—	—
93	93	1	—	—	—
62/26	58	1	1	1	1
28	218	10	5	14	6
63/21	104	1	—	—	—
23	178	7	5	5	3
24	22	2	2	2	2
29	26	3	3	6	2
50	103	1	1	4	—
57	72	5	5	7	6
64/ 4	128	5	5	11	—
7	71	3	3	10	5
57	51	5	5	8	—
65	47	15	15	54	22
75	85	1	1	4	—
78	80	11	11	52	10
82	119	53	44	225	56
85	109	24	24	59	8
86	70	5	5	22	3
95	66	1	1	1	—
65/14	13	5	5	18	3
18	133	32	32	114	39
25	29	11	11	28	6
30	96	28	28	131	45
48	53	6	6	17	6
66/11	98	1	1	7	1
18	42	1	1	2	—
22	118	40	40	325	145
27	101	1	1	1	—
53	89	4	4	7	4
67/11	47	22	22	71	31
12	63	3	3	8	—
14	194	11	—	—	—
69/ 4	179	3	—	—	—

Die geschilderten Tatsachen sind außerordentlich schwer zu erklären, weil doch alle 446 Pflanzen eine praktisch gleiche Ausbildung der Geschlechtsorgane aufwiesen, und die geringe Zahl von 8% Ansatzpflanzen schwerlich mit irgendeinem Spaltungsmechanismus in Einklang zu bringen ist. Eine Korrelation zwischen großen Receptaculi und Ansatz ist nicht vorhanden. Besonders wichtig war es also, die Frage zu klären, ob die 36 Pflanzen mit Ansatz gegenüber den übrigen 410 Bastardpflanzen genetisch verschieden determiniert sind, oder ob es sich um eine zufällige Ansatzbildung gehandelt hat. Zur Beantwortung dieser Frage wurden 1951 sämtliche 422 verbliebenen Bastardpflanzen zum zweitenmal

[1] Die cytologische Untersuchung von einigen dieser F_2-Pflanzen haben als Chromosomenzahlen $2n = 28$ und $2n = 35$ ergeben.

Tabelle 10. *Anzahl der Scheinbeeren mit bestimmter Anzahl Nüßchen/Scheinbeere einzelner F_1-Pflanzen der Kreuzung viridis × orientalis 1950.*

	Anzahl Scheinbeeren mit Nüßchen																										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
48,66/22	4	1	2	5	2	3	5	1	2	1	1	1	1	—	—	—	—	1	—	3	—	—	—	—	1	—	1	1
65/30	6	3	1	1	—	1	1	—	1	1	1	—	—	1	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—
65/18	6	6	3	2	3	1	3	2	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
64/82	2	5	3	4	3	2	3	—	1	—	2	1	1	1	1	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—

Zum Vergleich:

Fr. viridis 32,39,43,43,45,68,73,95 Nüßchen/Scheinbeere
Fr. orientalis 56,56,78,79,80,83,94,99,130 Nüßchen/Scheinbeere

auf das genaueste untersucht. Wiederum wurden rund 20000 Blüten einzeln durchgesehen (siehe Tabelle 8). 37 Pflanzen wiesen 1951 Scheinbeeren mit Ansatz auf, das sind 8,7%, eine mit der Zählung von 1950 weitgehend übereinstimmende Zahl. Dagegen war der Prozentsatz der Ansatzblüten, bezogen auf die Gesamtblütenzahl, nur halb so groß, und die Gesamtzahl der geernteten Nüßchen betrug nur $^1/_4$ der betreffenden Anzahl von 1950 (Tabelle 8). Die Zahl der Ansatzpflanzen war also praktisch fast die gleiche geblieben. Besonders wichtig war es festzustellen, ob in beiden Jahren die gleichen Pflanzen Ansatz hatten, oder ob es in jedem Jahr verschiedene Pflanzen waren. Darüber gibt Tabelle 11, S. 393 Auskunft. Danach haben 24 Pflanzen sowohl 1950 als auch 1951 Ansatz gehabt. 12 Pflanzen hatten nur 1950 und 13 andere nur 1951 angesetzt. Leider läßt dieses Ergebnis keinen endgültigen Schluß zu. Daß 24 Pflanzen von 446 Pflanzen rein zufällig in 2 Jahren hintereinander Ansatz hatten, ist unwahrscheinlich und läßt eine besondere genetische Determination vermuten. Andererseits schließen die 12 bzw. 13 verschiedenen Ansatzpflanzen in jedem Jahr die Annahme einer allgemein gleichen Determinierung und variabler, d. h. zufälliger Ansatzausbildung nicht völlig aus. Ein 3. Beobachtungsjahr wird hoffentlich eine Entscheidung ermöglichen.

Histologische Untersuchungen. In den untersuchten jungen, noch geschlossenen Blütenknospen sind die ♂-Geschlechtszellen in der Tetradenteilung. Das Tapetum ist noch gut entwickelt und die einzelnen Zellen zusammenhängend. Die Faserschicht ist noch nicht besonders ausgebildet. In der weiteren Entwicklung werden die Pollenkörner fertig ausgebildet, das Tapetum aufgelöst und die Faserschicht mit Verdickungsleisten versehen. Bis zum Öffnen der Theken werden die Scheidewände zwischen den Pollensäcken, die vorher recht dick und kräftig waren, bis auf geringe Überreste aufgelöst. Die gesamte Entwicklung der Stamina stimmt mit der bei den ♂♂ der reziproken Kreuzung weitgehend überein.

Schon in sehr kleinen Nüßchen ist eine deutliche Hemmung des Nucelluswachstums zu konstatieren (Abb. 12a). Es werden stets 3—5 Archesporzellen angelegt und mit der Reduktionsteilung begonnen. Schon in diesem Stadium beginnt in vielen Nüßchen die Degeneration des Nucellusgewebes einzusetzen. Die Entwicklung der Integumente geht vielfach nur bis zu kleinen Zellhöckern. Auch in den Fällen, in denen der Nucellus größer wird, erreicht das Integument in seinem Wachstum höchstens die halbe Höhe des Nucellus. Hier wird dann

die Reduktionsteilung vollständig durchgeführt, und man kann Anschwellungen einer Makrospore und auch zweikernige Embryosäcke des öfteren beobachten. Die Degeneration setzt aber auch hier ein; eigenartigerweise wird sie oft durch die Bildung von großen Vakuolen und einem damit verbundenen Anschwellen der Gonenzellen eingeleitet. Manche Samenanlagen grenzen in ihrer Ausbildung beinahe an die einer normalen. Dies konnte besonders bei den Pflanzen, die auch Ansatz hatten (z.B. 48,64/82 und 48,65 18) beobachtet werden. Trotz einer gewissen allgemeinen Hemmung werden Nucellus und Integument gut ausgebildet, die Samenanlage füllt fast den ganzen Nüßchenraum aus. Auffallend ist jedoch die Unterentwicklung des ♀-Gametophyten. In einem Stadium, in dem im normalen Nucellus der Embryosack bis in dessen Spitze, an das Integument vorgewachsen ist, hat er hier meist nur ungefähr die Mitte des Nucellus erreicht. Mit einer seitlichen Eindellung der Samenanlagen scheint die Degeneration auch hier einzusetzen. Einmal wurde auch ein völlig normaler Embryosack gesehen. Obwohl auch in diesem Fall die ganze Samenanlage eine gewisse Hemmung aufwies, beweist diese Ausbildung die Möglichkeit der Entwicklung normaler ♀-Gametophyten, die bei günstiger Befruchtung keimfähige Samen bilden können.

Tabelle 11. *Gegenüberstellung der Pflanzen mit Ansatz der Kreuzung viridis × orientalis 1950 und 1951.*

Pflanzen-Nr.	1950	1951	Pflanzen-Nr.	1950	1951
48,60/ 7	—	+	65	+	—
61/13	+	—	75	+	
25	—	+	78	+	—
38	+	—	82	+	+
39	+	+	85	+	+
53	+	+	86	+	—
72	—	+	95	+	+
73	+	+	65/14	+	
76	+	+	18	+	+
62/26	+	—	24	+	+
28	+	+	25	+	+
63/13	—	+	30	+	+
23	+	+	48	+	—
24	+	+	66/11	+	+
29	+	+	18	+	+
34	—	+	22	+	+
48	—	+	27	+	—
50	+	+	53	+	—
57	+	+	67/ 4	—	+
64/ 4	+	+	11	+	—
7	+	+	12	—	+
8	+	+	68/ 1	—	+
22	—	+	70/ 2	—	+
26	—	+	14	—	+
57	+	+			

Zusammenfassung: 1950 und 1951 — 24 Pflanzen
1950 = 12 Pflanzen
1951 = 13 Pflanzen

In je einem Nüßchen von 3 verschiedenen Pflanzen wurden 2 Samenanlagen beobachtet (Abb. 12b).

γ) *Cytologie.* Die diploide Chromosomenzahl beträgt bei allen untersuchten Pflanzen $2n = 21$.

In den Diakinesen werden meist 12—14 Elemente, also wahrscheinlich 2_{III} 5_{II} 5_{I}, 1_{III} 6_{II} 6_{I} oder 7_{II} 7_{I} gebildet. Die Analyse der Diakinesestadien war durch die starke Entspiralisierung der Chromosomen und die damit verbundene geringe Färbbarkeit sehr behindert. Zwei ganz deutliche Metaphasen I, in Polansichten, ließen 5_{I} 5_{II} und 2_{III} erkennen. Die Anaphasen I verlaufen gestört auf Grund der wechselnden Anzahl von Univalenten, welche zufallsgemäß zu den beiden Polen streben. Die beobachtete Zahl variierte von 2—6 mit einem

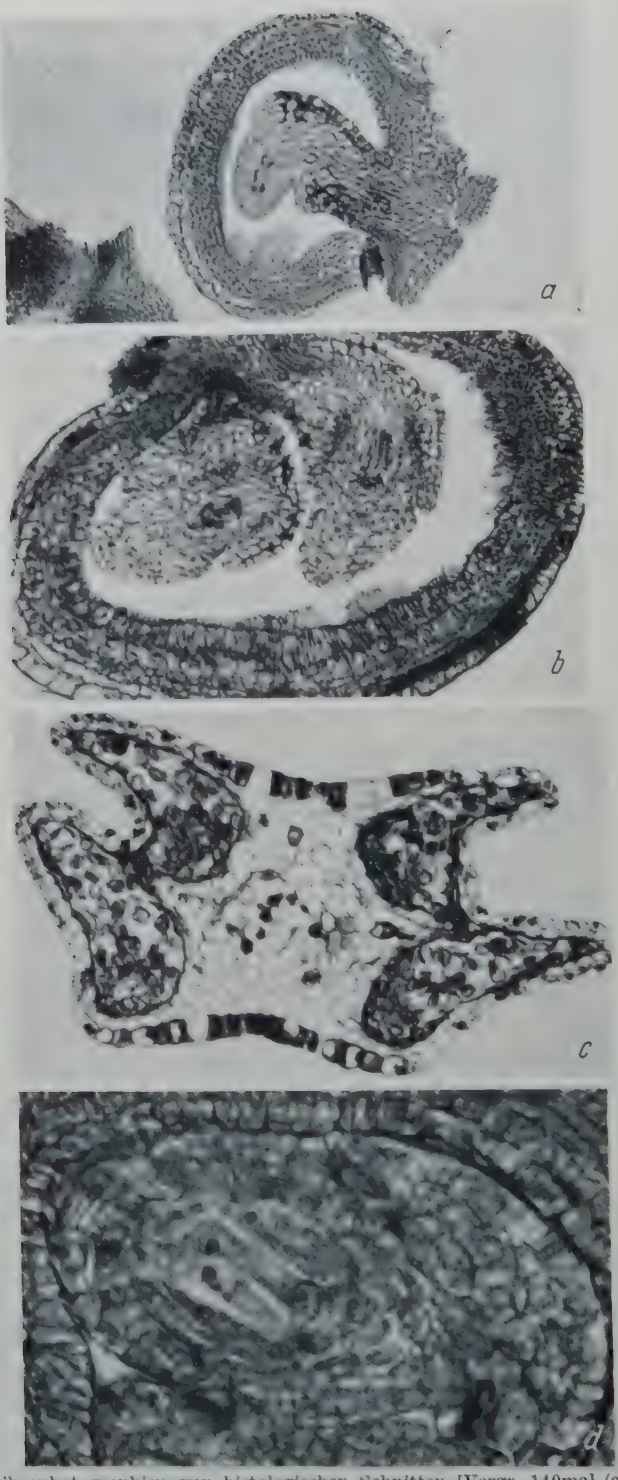


Abb. 12a –d. Mikrophotographien von histologischen Schnitten [Vergr. 140mal (a—c), 600mal (d)]. F_1-Bastarde *viridis* × *orientalis* (*a* und *b*); junge Samenanlage, deutlich gehemmt (*a*); Nüßchen mit 2 Samenanlagen (*b*). F_1-Bastarde *resca* × *orientalis* (*c* und *d*); verkümmerte Anthere (*c*); junge Samenanlage mit Archesporzellen (*d*).

Maximum bei 3—5. Besonders deutlich sieht man in Seitenansichten von frühen Anaphasen I die Trivalente in der Äquatorialebene liegen. Oft sind 2 Trivalente beobachtet worden, in einem Fall auch 3. Bei fehlender Ausbildung von Trivalenten werden stets 7 Bivalente gebildet. Gemäß der variablen Verteilung der Univalenten können in späten Anaphasen I und Telophasen I z. B. 12 und 9, 10 und 11 Chromosomen beobachtet werden. Entweder werden die Univalenten vollzählig in beide Kerne aufgenommen, oder man sieht in späten Telophasen I Chromatinreste im Kernraum liegen. Spättrennen von einem Bivalent in Ana- und Telophasen I wurde ebenfalls beobachtet. Die Metaphasen II und Anaphasen II verlaufen in den meisten Fällen unter großen Störungen. Während die Hauptmenge der Chromosomen noch in der Äquatorialebene lagert, eilen einige Chromosomen zu beiden Polen hin voraus. Oft sieht man Zellen, in denen alle geteilten Chromosomen, mehrmals wurden 42 gezählt, fast in der ganzen Zelle verstreut liegen. Es ist also nicht verwunderlich, wenn in späten Telophase II-Stadien neben normalerweise 4, auch 5, manchmal auch mehr Kerne oder Kernchen gebildet werden (Abb. 4d S. 374). Wahrscheinlich werden viele der Kernchen aufgelöst; andere werden wie normale Tetradenzellen von einer Membran umgeben und lassen dann eine bis zu 50% gestörte Tetradenbildung erkennen, von der Tabelle 12 einen Überblick geben soll.

Tabelle 12. *Auszählung von Tetradenzellen der Kreuzung viridis × orientalis* (48,65/18).

große Zellen	+ kleine Zellen	Anzahl	= %
3	1	13	13,3
3	2	4	4,1
4	0	45	46,4
4	1	30	30,9
4	2	4	4,1
3	3	1	1,0

$n = 97$

d) Fragaria orientalis × Fragaria viridis.

Im Gegensatz zu der reziproken Kreuzung *viridis × orientalis*, die leicht zum Erfolg führte, gelingt diese Kreuzung nur sehr selten. Im Jahre 1948 wurden 20 Blüten bestäubt. Von den 107 geernteten Nüßchen keimten aber nur 3 (Tabelle 6, S. 387). Während eine Pflanze im Pikierstadium einging, wuchsen die beiden anderen zu sehr ähnlich aussehenden Pflanzen heran. Da die für diese Kreuzungen benutzten ♀-*orientalis*-Pflanzen aus nicht kontrollierten Nachzuchten stammen, sind die beiden Bastarde (48,35/1 und 48,80/1) nur am Rande mit verfolgt worden. Es sind 2 gedrungene Pflanzen mit dunkelgrünen, breitovalen, vorne zugespitzten Blättern. Die Petalen besitzen einen deutlichen grünlich-gelblichen Schimmer. 48,35/1 ist ein ♂. Das Receptaculum, zuerst gleich hoch wie die Staubblätter, wird später im Wachstum gehemmt und wird postfloral schwarz. Die Antheren sind gut ausgebildet, und es wird durchschnittlich 6,6% morphologisch gut aussehender Pollen gebildet. Die Pflanze 48,80/1 ist ein ♀. Es werden Staminodien ausgebildet. Das Receptaculum schwillt postfloral an, bleibt aber grün und hart. Die Nüßchen nehmen etwas an Größe zu, doch haben sie sich stets als taub erwiesen. Beide Pflanzen haben $2n = 21$ Chromosomen.

1949 wurde die Kreuzung mit reinem Pflanzenmaterial wiederholt (Tabelle 6, S. 387). Daraus entstanden 7 Pflanzen.

α) *Morphologie.* Die Blattform (Abb. 13) und Rosettenhöhe ist bei den einzelnen Pflanzen verschieden ausgebildet. Beides ungefähr in der Variationsbreite,

die wir von der reziproken Kreuzung her kennen. Die Blütenstände sind gleich hoch oder überragen die Rosette etwas und legen sich nach dem Verblühen, besonders wenn Scheinfrüchte ausgebildet werden, soweit möglich, auf den Boden. Die Petalen sind weiß, entweder rund oder länglich oval und sind stark genagelt; sie überdecken sich mit ihren Rändern oder stehen frei (Abb. 14i—m). Sobald Scheinfrüchte ausgebildet werden, legen sich die Kelchblätter diesen zum Teil sehr deutlich (~ viridis) an. Die Form der Scheinfrüchte ist sehr abhängig von der Zahl der ausgebildeten fertilen Nüßchen; im allgemeinen kann man sie als intermediär

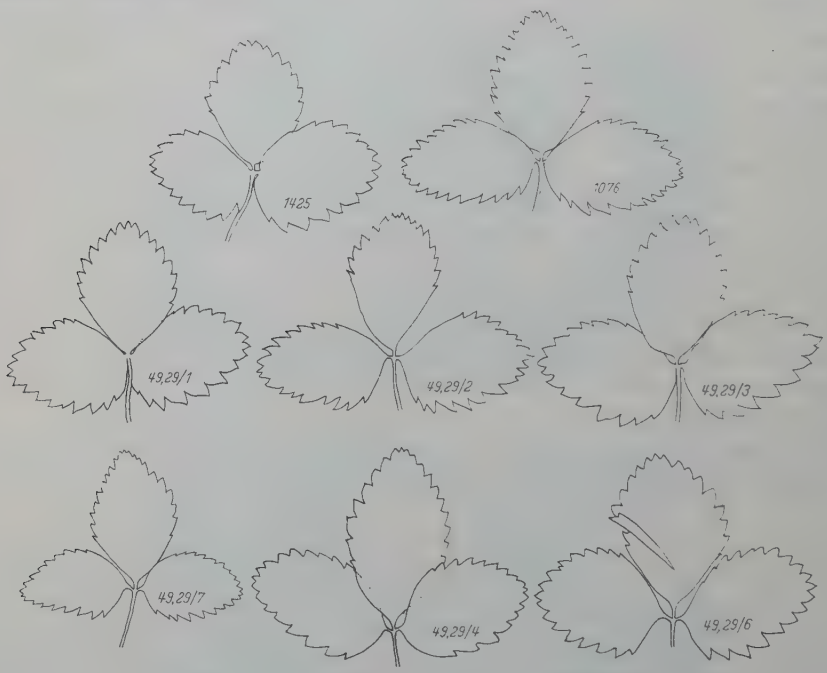


Abb. 13. Blätter von *orientalis* ♀ (1425); *viridis* (1076) und von verschiedenen F_1-Typen der Kreuzung *orientalis* × *viridis* (auf $^1/_3$ verkleinert).

bezeichnen. Die Nüßchen sind ± flach sitzend oder etwas eingesenkt. Der Geschmack der Scheinfrüchte ist intermediär. Die Ausläufer sind *sympodial* verzweigt.

β) *Geschlechtsausbildung und Histologie der Geschlechtsorgane.* Im Herbst 1950 haben 3 Pflanzen geblüht. Wegen der einsetzenden schlechten Witterung sind späte Herbstblüten nicht auswertbar. Im Sommer 1951 haben 6 Pflanzen geblüht (eine Pflanze, die im Herbst besonders stark geblüht hatte, blühte nicht). Die Pflanzen sind diözisch, das Geschlechtsverhältnis ist 3 ♀♀ zu 4 ♂♂ (Tabelle 13, S. 398). Die ♀-Blüten besitzen schmächtige Staminodien (Abb. 14i und k), die Receptaculi schwellen postfloral an, und sofern sich fertile Nüßchen entwickeln werden saftige Scheinbeeren ausgebildet. Neben einigen normal ausgebildeten Scheinbeeren werden eine größere Anzahl mit nur 1 oder 2 tauglichen Nüßchen besetzte, saftige Anschwellungen entwickelt (Tabelle 13). Die Staubblätter der ♂-Pflanzen sind normal ausgebildet (Abb. 14l und m), jedoch sind die Antheren nicht so kräftig und prall mit Pollen gefüllt wie bei *viridis* und *orientalis*. Bei

Abb. 14a—m. Blüten von *orientalis* ♂ (*a*); *viridis* (*1076*) (*b*); *orientalis* ♀ (*c*); Blüten von verschiedenen F_1-Typen der Kreuzung *viridis* × *orientalis* (*d—h*); Blüten von verschiedenen F_1-Typen der Kreuzung *orientalis* × *viridis* (*i—m*), davon sind *i* und *k* ♀♀, *l* und *m* ♂♂.

trockenem Wetter dehiszieren sie gut, und Pollen tritt aus beiden Öffnungen heraus. Die Pollenfertilität schwankt bei den 4 Pflanzen zwischen 12 und 22% morphologisch gut aussehenden Pollenkörnern (Tabelle 14, S. 399). Aus oben genauer angeführten Gründen (vgl. S. 389) ist es berechtigt, bei den ♂-Bastarden der Kreuzung *orientalis* × *viridis* mit einem durchschnittlichen Mittel von 15% morphologisch gut aussehenden Pollenkörnern zu rechnen. Die physiologische Tauglichkeit der Pollen hat sich bei Rückkreuzungen mit *Fr. orientalis* 1425 erwiesen.

Zwei ♂♂ bilden ± angeschwollene Receptaculi ohne jeglichen Ansatz aus, während die beiden anderen ♂♂ zum Teil recht gute Scheinfrüchte ausbilden und Ansatz haben, der in keiner Weise dem der ♀♀ unterlegen ist (Tabelle 13). Ob die unterschiedlich ausgebildete ♀-Fertilität der ♂-Pflanzen auf genetischen Unterschieden beruht, läßt sich ohne weitere Kreuzungsanalysen nicht entscheiden.

1. Entwicklung an ♀-Pflanzen (49,29/4, 5 und 7).

♀-Organe. In frühen Stadien wird der von der Fruchtschale gebildete Raum völlig von Nucellus und Integument eingenommen. Dies ist auch in vielen Fällen in den ausgewachsenen Nüßchen der Fall. In anderen Samenanlagen sind deutlich Hemmungen sichtbar, die sich in einem Zurückbleiben der Samenanlagen äußern. Die Samenanlagen werden seitlich eingedellt und stellen das Wachstum ein; dieser Vorgang wurde bei ungefähr der Hälfte der Früchte beobachtet. Aber auch in den scheinbar normal wachsenden Samenanlagen ist eine gewisse Hemmung vorhanden, sie betrifft die Entwicklung des ♀-Gametophyten selbst. In Blüten mit gerade vertrocknenden Staminodien haben die Embryosäcke noch nicht den Nucellusrand erreicht. In einer anderen gleichfalls ausge-

Tabelle 13. *Ansatz der F_1-Pflanzen der Kreuzung orientalis × viridis 1951.*

	Blütenstände	Blüten	Beeren und Anschwellungen	Anzahl Scheinbeeren mit 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 Nüßchen	Nüßchen Σ
49,29/1 ♂	14	81	50	14	5	3	2	3	3	1	2	—	1	1	35
2 ♂	8	20	10	3	2	1	2	—	—	—	—	—	—	—	8
3 ♂	7	29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 ♂	5	15	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4 ♀	9	34	18	3	6	1	2	1	—	—	—	—	—	—	13
5 ♀	18	141	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—[1]
7 ♀	9	45	31	7	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	11

[1] Diese Pflanze hat 1951 nicht geblüht, da sie im Spätherbst 1950 sehr stark geblüht hatte.

wachsenen Blüte sind Nucelli und Integumente kräftig ausgebildet, die Entwicklung der ♀-Gametophyten ist aber noch sehr weit zurück, nämlich im Stadium der Reduktionsteilung (vgl. die normale Entwicklung bei *Fr. orientalis* S. 372). In älteren Blüten wird die normale Ausbildung der Embryosäcke wohl nur in den gut aussehenden Nüßchen durchgeführt. In einem Fall wurden in einer Samenanlage 2 Embryosäcke beobachtet, von denen der eine bis vorn zum Nucellusrand reichte, der andere seitlich abgebogen war.

♂-*Organe*. Die ♂-Geschlechtsorgane sind staminodial ausgebildet. Die Epidermis ist normal großzellig, die Faserschicht, wenn in einigen Fällen auch großzellig, kommt nie zur Ausbildung. Die früh einsetzende Degeneration des sporogenen Gewebes wirkt sich auf die nähere Umgebung ebenfalls zersetzend aus. Einbuchtungen, Faltungen und Verbildungen der „Pollensäcke" sind das Resultat. Das degenerierende Gewebe wird von dem weiter wachsenden Konnektivgewebe zerdrückt und färbt sich mit Safranin stark dunkelrot an.

Tabelle 14. *Pollenfertilität der ♂ Pflanzen der Kreuzung orientalis × viridis.*

Pflanzen-Nr.	*n*	gut	% gut
49,29/1	287	65	22,6
2	1253	228	18,1
3	70	11	15,7
6	1578	197	12,4
$n=4$	$\Sigma=3188$	$\Sigma=501$	15,7% i. D.

2. Entwicklung an ♂-Pflanzen (49,29/6).

♀-*Organe*. In geschlossenen Blütenknospen sind die Nüßchen noch staubfein. Nucellus und Integument füllen den Nüßchenraum vollständig aus. Die Anlage von Archesporzellen ist deutlich sichtbar. Ob die Reduktionsteilung durchgeführt wird, konnte nicht genau festgestellt werden, ein Anfang scheint auf jeden Fall gemacht zu werden. Zu diesem Zeitpunkt beginnen die Samenanlagen ihr Wachstum einzustellen und degenerieren (Abb. 12f). In größeren Nüßchen liegt dann der degenerierende Nucellus mit dem Integument, welches höchstens bis zur $^3/_4$-Höhe des Nucellus anwächst, als kleiner Zellkomplex in dem großen von der Fruchtschale gebildeten Raum. Leider standen Nüßchen von Ansatz-♂♂ zur histologischen Untersuchung nicht zur Verfügung.

Tabelle 15. *Zusammenfassende Übersicht über die durchschnittliche Pollenfertilität der Elternpflanzen und der Bastardpflanzen.*

	n	gut	% gut
Fr. vesca Si 8	3606	3375	93,5
Fr. viridis 1076	1058	1012	95,8
Fr. orientalis 1823	2394	1925	80,0
F_1 *viridis × orientalis* . . .	42084	6715	15,9
F_1 *orientalis × viridis* . . .	3188	501	15,7
F_1 *vesca × orientalis* . . .	100 Pflanzen. Neben Pflanzen mit 100% schlechten Pollen, einige Pflanzen mit 3—5% guten Pollen,		

♂-*Organe*. Schon in Blütenknospen sind die Antheren kräftig ausgebildet und die Pollenkörner frei; eine dünne Tapetumschicht liegt der Pollensackwandung noch an. Die Scheidewände zwischen je 2 Pollensäcken sind sehr breit und kräftig. Die Faserschicht ist ebenfalls sehr kräftig ausgebildet. In der weiteren Entwicklung bis zum Öffnen der Pollensäcke werden die Tapetumreste vollständig absorbiert und die Scheidewände bis auf geringe Reste aufgelöst. Die Antheren dehiszieren und entlassen ihren Pollen.

γ) *Cytologie*. Die diploide Chromosomenzahl beträgt bei allen 7 Pflanzen $2n = 21$.

In Prophasen konnten bei einigen Chromosomen deutliche Paarungen beobachtet werden. In den Diakinesen werden 11—14 Elemente gebildet. Es werden also auch hier Trivalente gebildet, und zwar bis zu 3. Die Anaphasen I sind gestört durch die unregelmäßige Verteilung der Univalenten. Ein Spättrennen von einzelnen Bivalenten wurde ebenfalls beobachtet. Auch in der

Äquationsteilung treten Störungen bei der Verteilung auf, wie wir sie bei den reziproken Bastarden *viridis* × *orientalis* bereits kennengelernt haben. So ist es nicht erstaunlich, wenn auch die Durchschnittswerte der morphologisch gut aussehenden Pollen mit denen der reziproken Bastarde weitgehend übereinstimmen (vgl. Tabelle 15).

III. Besprechung der Ergebnisse.

A. Die phylogenetischen Fragen.

Erst die gesicherten Grundlagen der Vererbungswissenschaft und deren exakte Experimentalmethodik und Untersuchungsweisen haben eine experimentelle Bearbeitung von Evolutionsfragen möglich gemacht. Wie der Systematiker auf Grund von übereinstimmenden Merkmalen seine Pflanzen gruppiert und dabei, oft unbewußt, phylogenetische Beziehungen aufdeckt, so schließt der Genetiker auf Grund von übereinstimmenden Erbanlagen und dem damit verbundenen genetischen und cytologischen Verhalten auf verwandtschaftliche Beziehungen.

Eine Vielzahl von Beispielen ist seither bekanntgeworden, bei denen systematisch streng voneinander geschiedene Einheiten, seien es Arten oder Rassen, sich durch exakt definierbare genetische Unterschiede charakterisieren lassen. Alle diese Unterschiede müssen einmal mutativ entstanden sein, und wir sehen heute in den Gen- Chromosomen- und Genommutationen die Entwicklungsfaktoren der Natur, mit denen sie im Laufe der Zeit die überwältigende Fülle des Organismenreiches geschaffen hat. Nicht immer lassen sich Art- oder Rassenunterschiede so klar definieren wie z. B. de Cugnac (1939) zeigen konnte, daß die die beiden Arten *Bromus arduennensis* und *Br. grossus* trennenden charakteristischen Merkmale monogen rezessiv vererbt werden. Weiter seien die Untersuchungen von Blakeslee (1929, 1932) über Translokationen bei bestimmten geographischen Rassen von *Datura Stramonium* genannt, oder an die, durch bestimmte Inversionen charakterisierten, Rassen von *Drosophila* erinnert [nach Untersuchungen von Sturtevant und Dobzhansky (1936) u. a.]. In der Mehrzahl der Fälle sind die Art- und Rassenunterschiede aber derart komplexer Natur, daß wegen der kontinuierlichen Variabilität der Nachkommenschaften eine genetische Analyse nicht durchführbar ist.

Der Vorzug, der den auf Grund von genetischen Experimenten getätigten phylogenetischen Schlüssen gegeben werden muß, beruht auf der Objektivität der experimentellen Ergebnisse. Welche Methode der genetischen Untersuchungen bei dem betreffenden Objekt angewendet werden kann, wird von diesem selbst bestimmt. Die Grundlage für alle Untersuchungen ist und wird stets die Kreuzungsanalyse sein. Wichtige Aufschlüsse sind weiterhin durch die cytologischen Untersuchungen möglich, sei es durch Untersuchung der Chromosomenstruktur oder der Bindungsverhältnisse zwischen den verschiedenen Chromosomen. Die Chromosomenverhältnisse bei *Fragaria* gestatten nur die Anwendung der letzteren Untersuchungsmethode. Dieser Methode liegt die experimentell begründete Annahme zugrunde, daß nur homologe Chromosomen, also solche mit einer übereinstimmenden Anordnung der Genloci, zu einer normalen Paarung befähigt sind. Nichtpaarung von Chromosomen kann nicht ohne weiteres auf fehlende Homologie zurückgeführt werden, Paarung zeigt aber stets eine weitgehende Übereinstimmung der Chromosomen und damit eine ver-

wandtschaftliche Beziehung an. Die Untersuchungen von Levan (1942) an haploidem Roggen lassen Zweifel an der Allgemeingültigkeit der Annahme der Paarung nur homologer Chromosomen aufkommen. In der Meiosis der haploiden Roggenpflanzen werden oft 2 Bivalente und 1 Trivalent oder auch hin und wieder Tetravalente gebildet. Die fast normale Paarung der Chromosomen (es werden sogar Chiasmen gebildet) gibt dazu Anlaß, zu überlegen, wieweit die Paarung von Chromosomen noch als Kriterium für Homologie gewertet werden kann. (Vgl. auch L. Smith (1946) über haploide *Triticum monococcum* und Ernst (1940) über haploide *Antirrhinum majus*). Es hat daher auch nicht an Stimmen gefehlt, die vor einer Überbewertung der Chromosomenpaarung und ihrer phylogenetischen Bedeutung gewarnt haben (vgl. Dobzhansky 1939).

Neben den cytogenetischen Untersuchungen wird der Wert der vergleichenden Morphologie und der Pflanzengeographie bei allen phylogenetischen Untersuchungen nicht verkannt. Alle 3 Disziplinen sind bei den vorliegenden Untersuchungen angewendet worden, und es soll nun geprüft werden, welche Schlüsse die Versuchsergebnisse ermöglichen.

Das Ziel der Untersuchungen war es, eventuelle verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den beiden diploiden Arten *Fr. vesca* und *Fr. viridis* einerseits und der tetraploiden Art *Fr. orientalis* andererseits, aufzudecken. Auf Grund der allgemeinen Ansicht der Genetik, in Polyploiden abgeleitete Formen ihrer diploiden Vorfahren zu sehen, war es selbstverständlich in der tetraploiden Art die phylogenetisch jüngere zu sehen.

a) Ergebnisse der cytologischen Untersuchungen.

In den Bastarden *viridis* × *orientalis* und in ähnlicher Weise bei den reziproken Bastarden werden bei Fehlen von Trivalenten stets 7 Bivalente und 7 Univalente gebildet. Werden Trivalente gebildet, so geschieht dies in der Weise, daß zu den Bivalenten noch ein weiteres Chromosom hinzukommt. Niemals sind es mehr als 7 Bi- und Trivalente zusammen. Von den im Bastard vorhandenen 21 Chromosomen sind also mindestens 14 paarweise einander homolog. Das besagt, daß entweder die 7 Chromosomen von *viridis* mit 7 Chromosomen des einen *orientalis*-Genoms paaren und somit homolog sind, oder daß die beiden *orientalis*-Genome mit je 7 Chromosomen untereinander paaren. Im 1. Fall würde die Paarung der Genome

$$\frac{\text{vir}\ \ \overline{\text{ori}}}{\text{ori}} \quad \text{als allosyndetisch,}$$

im 2. Fall

$$\frac{\overline{\text{ori}}\ \ \overline{\text{vir}}}{\text{ori}} \quad \text{als autosyndetisch}$$

(im Sinne von Ljungdal 1924) bezeichnet werden. Auf Grund der zuletzt angenommenen Paarungsweise wäre *Fr. orientalis* als *autotetraploid* anzusehen. Nun sind aber bis zu 3 Trivalente beobachtet worden, und es ist damit erwiesen, daß wenigstens mit einer teilweisen Homologie zwischen dem *viridis*-Genom und den *orientalis*-Genomen gerechnet werden kann. Die Bastarde der Kreuzung *vesca* × *orientalis* ergaben in den Meiosen ganz ähnliche Resultate. Hier werden neben Bivalenten bis zu 4 Trivalente gebildet. Im ganzen sind es aber immer nur 7 Bi- oder Trivalente, die übrigen 3 bis 7 Chromosomen

sind als Univalente vorhanden. Neben der fast als normal anzusehenden Paarung von 14 Chromosomen kommt es also niemals zu einer weiteren Paarung der übrigen 7 Chromosomen untereinander. Es ergibt sich also auch hier eine teilweise Homologie des *vesca*-Genoms mit den *orientalis*-Genomen, oder eine vollkommene Homologie zwischen einem *vesca*-Genom und einem *orientalis*-Genom und teilweise Homologie des 2. Genoms von *orientalis* mit den beiden anderen.

In den Diakinesen der tetraploiden Elternart *Fr. orientalis* wurden maximal 4 Tetravalente gefunden. Bei Ausscheidung der Möglichkeit, daß diese Bindungen durch stattgefundenen Segmentaustausch hervorgerufen werden, sprechen diese Beobachtungen für eine *Autopolyploidie* bei dieser Art. Es ist eine oft gemachte Feststellung, daß bei wirklichen Autopolyploiden fast nie die höchst mögliche Zahl von Polyvalenten gebildet wird [z. B. Jørgensen (1928) bei 4 *x Solanum lycopersicum* oder v. Berg (1936) bei 4 *x Hordeum bulbosum*]. In mehreren Fällen wird für Autopolyploide sogar eine ganz normale Bivalentenbildung angegeben [Müntzing und Prakken (1940) bei *Phleum pratense* und Upcott (1939) bei *Tulipa*]. Eine Möglichkeit, die geringen Multivalentenbildungen bei der tetraploiden *orientalis* und den Bastarden zu erklären, beruht auf der Erscheinung, daß die Paarung zwischen kleinen Chromosomen durch die geringe Anzahl der zu bildenden Chiasmen weniger fest ist und daher oft schon frühzeitig gelöst wird. Darauf hat Darlington (1932) hingewiesen und Kostoff (1939). Stone und Mather (1932) haben bei 3 *x Hyacinthus* und Heilborn (1932) bei *Carex glauca* statistisch sichergestellt, daß sich die Chromosomenlänge auf die Bildung von Multivalenten auswirkt. Bei beiden untersuchten Arten kommen Chromosomen verschiedener Größen vor, und es hat sich gezeigt, daß die kurzen Chromosomen erheblich öfter nur Bivalente oder Univalente bilden als die längeren, die in der Mehrzahl der Fälle zu Multivalenten verkettet waren.

Die tetraploiden Bastarde *orientalis* × *vesca*, für die eine normale Geschlechtszellbildung angegeben wurde, und in deren Diakinesen stets 14 Bivalente gebildet werden, unterstützen den durch die anderen Untersuchungen wahrscheinlich gemachten Schluß, daß *Fr. orientalis autotetraploid* ist, und daß die Genome von *orientalis* denen von *Fr. vesca* und *Fr. viridis homolog* sind. Damit ist ein weiterer Beweis für die Homologie der Genome von *Fr. vesca* und *viridis* erbracht, was schon durch die Untersuchungen von Lilienfeld und Schiemann als bewiesen angesehen werden konnte. Die Untersuchungsergebnisse beider Autoren lassen auch den Schluß zu, daß *Fr. moschata* autopolyploid ist.

Nachdem nun für *Fr. vesca* und *viridis*, *orientalis* und *moschata* die Homologie der Genome sichergestellt ist, und man dies nach den Untersuchungen von Yarnell (1931) und Powers (1944) auch für die oktoploiden Arten annehmen darf, kann man sagen, *daß sich die Artbildung bei Fragaria auf der Basis der Autopolyploidie*[1] *vollzogen hat.* Das besagt, daß das ursprüngliche Genom mit

[1] Bei der Definition der Autopolyploidie stimme ich mit Kihara u. Ono (1926), Müntzing (1936), Lilienfeld (1936) und Stebbins (1947) überein und sehe solche Pflanzen als autopolyploid an, deren Chromosomensätze (Genome) strukturell identische Chromosomen besitzen, die in der Reduktionsteilung normal miteinander paaren. Die korrespondierenden Chromosomen müssen also in der Anordnung der Loci weitgehend übereinstimmen, bei beliebigem Vorhandensein von Allelomorphen.

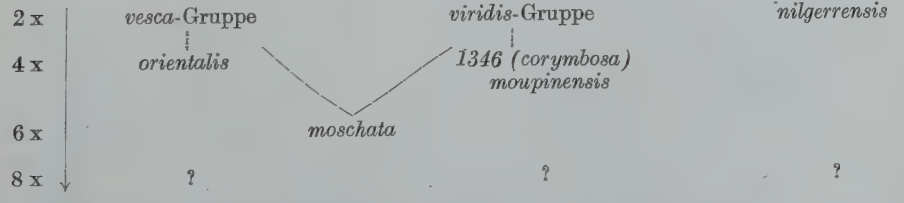
7 Chromosomen während des gesamten Evolutionsvorganges nicht durch Gen- und Chromosomenmutationen so verändert worden ist, daß keine Paarung mehr vor sich gehen kann.

Rosanova hat schon 1938 vermutet, daß „the evolution of species of *Fragaria* has proceeded in the direction of autopolyploidy or close allopolyploidy". 1946 hat sie sich auf Grund der Arbeiten von Fedorova (1946) den Ansichten dieser Autorin angeschlossen. Fedorova sieht *Fr. orientalis* ebenfalls als autopolyploid an und gibt ihr die Genomformel AAAA. Diese Genome sollen mit 2 Genomen von *moschata* homolog sein. Das 3. Genom von moschata ist gleich dem *nipponica*-Genom (nach Lilienfeld, also dem *viridis*-Genom nach Schiemann) und wird mit BB bezeichnet. Fedorova führt dann weiter aus: „The genome of *Fr. vesca* (let us designate it CC) has no common elements with the genomes of *Fr. elatior* (= *moschata*) and *Fr. orientalis*...." Diesen Ansichten kann, nach den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen, für *Fr. orientalis* nicht mehr entsprochen werden. Für *Fr. moschata* ergibt sich die gleiche Ablehnung der Ansichten Fedorovas auf Grund der Untersuchungsergebnisse von Schiemann (1943).

b) Ergebnisse der vergleichend morphologischen und pflanzengeographischen Untersuchungen.

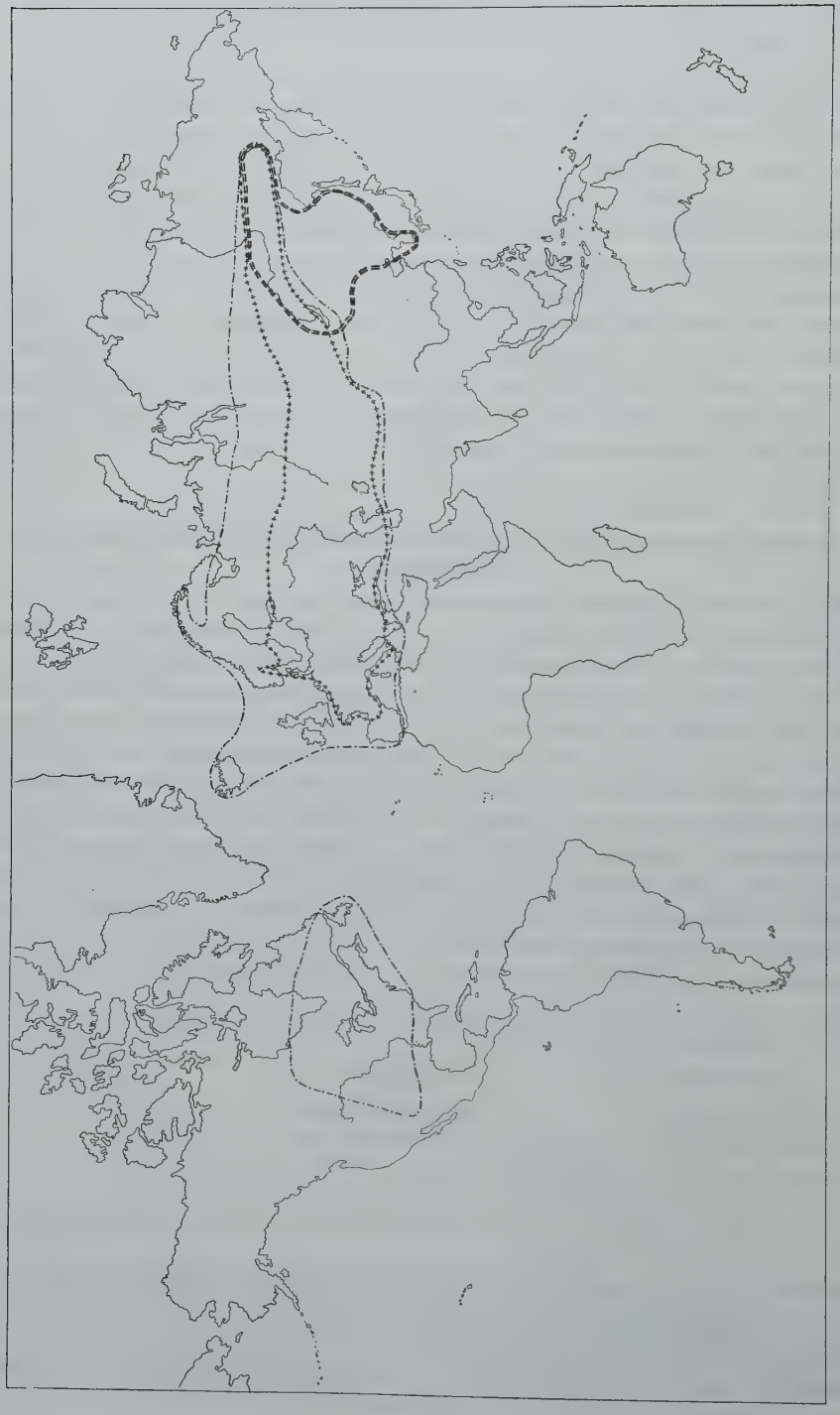
In der Gattung *Fragaria* kennen wir 3 diploide Arten bzw. Artengruppen, die jede durch besondere morphologische und auch physiologische Merkmale charakterisiert sind. Die *vesca*-Gruppe (vgl. S. 364) ist gekennzeichnet durch ihre breiten Blätter und sympodiale Verzweigung der Ausläufer. Die *viridis*-Gruppe (vgl. S. 367) zeichnet sich durch ihre Schmalblättrigkeit und monopodialen Aufbau der Ausläufer aus. *Fr. nilgerrensis* stellt einen von den beiden anderen Arten abweichenden Typ dar; sie ist charakterisiert durch ihre runden, sehr derben und dunkelgrünen Blätter, die relativ klein sind. Die diploide *Fr. nilgerrensis* dürfte — soweit wir heute wissen — in der Gattungsphylogenie keine weitere Rolle gespielt haben. Die beiden erstgenannten Artengruppen sind sehr wahrscheinlich die Ausgangspunkte von 2 Entwicklungsreihen gewesen, die man auf Grund der morphologischen Merkmale, in Verbindung mit den Chromosomenzahlen, aufzustellen geneigt ist. In der phylogenetischen Entwicklung

Schematische Darstellung der möglichen phylogenetischen Entwicklung.



der Gattung *Fragaria* hat eine Polyploidisierung von diploiden Typen wahrscheinlich 2mal stattgefunden. In jeder der angenommenen Entwicklungsreihen sind tetraploide Arten vorhanden.

Sowohl *Fr. viridis* als auch *Fr. vesca* berühren in ihrer heutigen geographischen Verbreitung in Ostsibirien das Areal von *Fr. orientalis* und besiedeln



Karte: Die geographische Verbreitung der Arten *Fr. vesca* —·—·—·—, *Fr. viridis* + + +, *Fr. orientalis* = = =.

große Gebiete gemeinsam (s. Karte). Damit ist prinzipiell die Möglichkeit gegeben, auch auf Grund der cytologischen Untersuchungen, beide diploide Arten in die Aszendenz der *Fr. orientalis* zu stellen. Die morphologischen Merkmale sprechen jedoch dafür, *orientalis* in die Entwicklungsreihe der *vesca*-Gruppe zu stellen. *Fr. vesca* und *Fr. orientalis* stimmen in ihrer Breitblättrigkeit und der sympodialen Verzweigung der Ausläufer überein und repräsentieren einen völlig anderen Typus als er uns aus der *viridis*-Reihe mit den beiden tetraploiden Arten *Fr. moupinensis* und *Fr. spec. 1346* bekannt ist. Für die Entstehung der einzigen hexaploiden Art *Fr. moschata* (verbreitet in Europa) kann man sehr wahrscheinlich eine Kreuzung zwischen Angehörigen der *vesca*- und *viridis*-Entwicklungsreihe ($4x \times 2x$) mit nachfolgender Chromosomenverdoppelung annehmen (vgl. Staudt 1951). Eine Beteiligung der *Fr. moschata* an der Entstehung der *Fr. orientalis*, wie man es auf Grund der experimentellen Ergebnisse von Schiemann (s. S. 361) hätte vermuten können, muß aus pflanzengeographischen Gründen als unwahrscheinlich angesehen werden. Wenn in Nachkommenschaften der Kreuzung *vesca* × *moschata* *orientalis*-ähnliche Typen auftreten, so kann dies als Hinweis auf eine mögliche Beteiligung der *orientalis* am Aufbau der *moschata* angesehen werden.

Eine phylogenetische Beziehung der angenommenen Entwicklungsreihen zu den oktoploiden amerikanischen Arten konnte bisher nicht festgestellt werden.

Das Auftreten der Diözie bei der tetraploiden *Fr. orientalis* ist phylogenetisch, wie auch rein formal-genetisch, in gleicher Weise von Bedeutung. Wenn auch rein genetisch eine mögliche Erklärungsweise für die Entstehung angegeben werden kann, so ist es doch erstaunlich, daß auch beim Übergang zur Polyploidie in der *viridis*-Entwicklungsreihe Getrenntgeschlechtlichkeit aufgetreten ist (*Fr. 1346* und *Fr. moupinensis*). Nur die Verdoppelung der Genome ruft eine Veränderung der Geschlechtsausbildung nicht hervor, wie künstlich hergestellte tetraploide *Fr. vesca* zeigen (Staudt, unveröffentlicht). Vielleicht können weitere Formenkenntnisse von wilden Arten Ansatzpunkte für die Untersuchung dieses wichtigen Problems liefern.

B. Die Fragen der Geschlechtsvererbung und Geschlechtsbestimmung.

a) Die Heterogametiefrage.

Im Jahre 1937 berichteten Petrov und Tukan über Kreuzungen zwischen *Fr. vesca* und *Fr. orientalis*. Sie erhielten 16 F_1-Pflanzen, von denen 9 reine weibliche und 7 reine männliche Blüten hatten. Sowohl die männlichen als auch die weiblichen Blüten waren 100%ig steril. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde der Schluß gezogen, daß *Fr. orientalis* im ♂-Geschlecht heterogametisch sei. *Fr. orientalis* würde somit von dem üblichen Modus der Geschlechtsbestimmung in der Gattung *Fragaria*, der ♀-Heterogametie, abweichen. Ein derartiges Vorkommen von Homo- und Heterogametie des ♀-Geschlechts in einer Gattung ist bisher nur bei *Platypoecilus* nachgewiesen worden.

Es sind nun diese Kreuzungen wiederholt worden und analoge Kreuzungen mit der gleichfalls zwittrigen *Fr. viridis* ausgeführt worden. Mit *Fr. viridis* hat glücklicherweise auch die reziproke Kreuzung zum Erfolg geführt. Die Ergebnisse dieser Kreuzungen sind denen von Petrov und Tukan vollständig

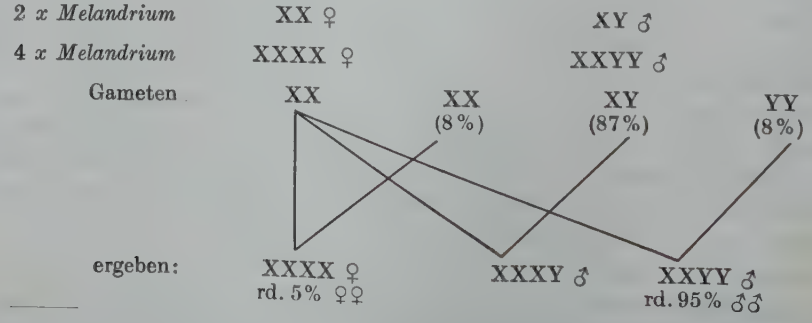
entgegengesetzt. Die ♂♂ von *Fr. orientalis* sind homogametisch, die ♀♀ heterogametisch[1].

Da die zu meinen Untersuchungen benutzten *orientalis*-Sippen aus Originalmaterial aus der Mandschurei stammen, kann der Verdacht, daß die beschriebenen Versuche nicht mit wirklicher *Fr. orientalis* durchgeführt worden sind, ohne weiteres zurückgewiesen werden. Es gibt nur eine Möglichkeit die Versuchsergebnisse von PETROV und TUKAN und die Meinigen in gleicher Weise anzuerkennen, die Annahme, daß bei *Fr. orientalis* Sippen mit ♀- und ♂-Heterogametie existent sind. Bedauerlicherweise fehlen der Arbeit von PETROV und TUKAN aber Angaben über Herkunft der Sippen und jegliche Angaben über morphologische und cytologische Verhältnisse der Blüten und Geschlechtsorgane. Auf Grund meiner Erfahrungen, speziell bei der Geschlechtsausbildung der F_1-Bastarde *vesca* × *orientalis*, sehe ich es als möglich an, bei einer nicht sehr intensiven Beobachtung, zu dem Ergebnis von PETROV und TUKAN zu gelangen.

b) Das Geschlechtsverhältnis bei Fr. orientalis.

Die benutzten *orientalis*-Sippen sind rein diözisch. Das Geschlechtsverhältnis wurde an der Nachkommenschaft *1425* × *1823* geprüft. Die F_1 bestand aus 415 Pflanzen, davon waren 253 ♀♀, 158 ♂♂ und 2 ♂♀ und 3 weitere fragliche Zwitter. Das Verhältnis der Geschlechter zueinander ist also erheblich abweichend von dem normalen, anzunehmenden 1 : 1-Verhältnis. Ein Überwiegen der ♀♀ wurde auch in anderen Kreuzungen, die hier nicht beschrieben worden sind, beobachtet, an denen *Fr. 1425* ♀ beteiligt war. Als Ursache könnte an eine Unverträglichkeit zwischen den ♂-determinierten Gonen oder Zygoten und dem sie umgebenden ♀-determinierten mütterlichen Gewebe gedacht werden. In diesem Fall müßte man von einer gonischen bzw. zygotischen Letalität sprechen.

Das abweichende Geschlechtsverhältnis steht in auffallender Weise im umgekehrten Verhältnis zu Befunden über die WESTERGAARD (1940) bei ♂-heterogametischen 4*x Melandrium* und MURRAY (1940) bei ♂-heterogametischen 4*x*-*Acnida* berichtet haben. Beide Autoren finden in den Nachkommenschaften künstlich polyploid (tetraploid) gemachter diözischer Sippen einen sehr verschwindend kleinen Anteil von ♀♀ (bei *Melandrium* z. B. 18 ♀♀, 327 ♂♂ und 2 ♂♀). Eine einfache Erklärung findet diese eigenartige Aufspaltung in der Tatsache, daß die heterogametischen ♂♂ zu ungefähr 87% XY-Gameten gebildet



[1] Die Besprechung der Ergebnisse über die Geschlechtsausbildung, die diese Behauptung ermöglichen, erfolgt unter B. c.

haben. Das besagt, daß in der Mehrzahl der Fälle nicht die X- mit den Y-Chromosomen miteinander in den Meiosen paaren, sondern die X mit den X und die Y mit den Y-Chromosomen. So entsteht der hohe Prozentsatz an XY-Gameten, die mit den, von den homogametischen ♀♀ gebildeten, XX-Gameten die hohe Anzahl der ♂♂ ermöglichen.

Das Überwiegen der ♀♀ und die weibliche Heterogametie bei *Fr. orientalis* lassen es theoretisch denkbar erscheinen, daß bei *Fr. 1425* ♀ ein ähnlicher Mechanismus vorliegt, wie bei 4*x Melandrium* und 4*x Acnida*. *Fr. 1425* ♀ müßte dann jedoch die Konstitution XXYY besitzen, was noch völlig unbewiesen und auch unwahrscheinlich ist, da wir keine diploide diözische Erdbeerart kennen, von der die tetraploide *Fr. orientalis* abgeleitet werden könnte. Hier müssen weitere Untersuchungen einsetzen und als erstes klären, wie die Geschlechtsverhältnisse bei der Verwendung von anderen *orientalis* ♀♀ ausfallen.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit ergibt sich, wenn man für die Geschlechtsbestimmung bei *Fr. orientalis* eine polyfaktorielle Grundlage annimmt. Kosswig und Breider (vgl. Breider 1949) erklären die verschiedenen Aufspaltungsverhältnisse der Geschlechter bei *Xiphophorus helleri* mit einem System von polymeren Geschlechtsfaktoren. In neuerer Zeit ist de Lattin (1950 und 1951) auf Grund seiner Versuche über die Geschlechtsverhältnisse bei *Porcellio* und *Tracheoniscus* zu einem ähnlichen Ergebnis gekommen. Die abweichenden Geschlechtsverhältnisse lassen sich nicht als Modifikationen eines primären 1 : 1-Verhältnisses erklären, für das ein Heterochromosomenmechanismus angenommen werden müßte, sondern nur mit einem System von polymeren Geschlechtsfaktoren, zu denen die analysierten Farbfaktoren gerechnet werden können. Die variable Ausbildung der Geschlechtsorgane bei *Fr. orientalis* und den beschriebenen Bastarden, läßt eine Erklärung auf polyfaktorieller Basis nicht von vornherein als unmöglich erscheinen.

c) Die Ausbildung und Funktion der Geschlechtsorgane.

Die Ausbildung der Organe beider Geschlechter bei den ♂-Pflanzen verläuft normal. Die Pflanzen von *Fr. vesca* Si 8 und *Fr. viridis* Si 1076 sind konstante ♂♂. Geschlechtsausbildung und Morphologie der Geschlechtsorgane weisen nie eine erbliche Variation auf, es können nur phänotypische Beeinflussungen durch ungünstige Klimabedingungen auftreten. Es wird auf die genaue Beschreibung unter II A a und b verwiesen.

Bei den ♀-Pflanzen der diözischen *Fr. orientalis* sind die entgegengesetzten Geschlechtsorgane als Staminodien ausgebildet, sie sind also gegenüber den normalen Staubblättern von viel geringerer Größe (Abb. 14a und c, S. 397). Es werden noch Archesporzellen angelegt, PMZ gebildet und die Prophasen der Reduktionsteilung begonnen. In diesem Stadium setzt die Degeneration ein. Ebenso lassen bei den ♂♂ die ♀-Organe eine frühzeitige deutliche Hemmung erkennen. Samenanlagen werden angelegt, und die Reduktionsteilung kann, wenigstens von den inneren Archesporzellen, durchgeführt werden. Danach setzt eine völlige Degeneration der Samenanlagen ein.

Die Geschlechtsausbildung der Bastarde ♂ × ♂ ist im großen gesehen einheitlich. Je nach den als Mutterpflanzen benutzten Arten ist jedoch die Ausbildung der Geschlechtsorgane sehr verschieden. Die *viridis* × *orientalis*-

Bastarde besitzen durchweg große, goldgelbe und prall gefüllte Antheren, wie sie uns in gleicher Weise bei beiden Elternarten bekanntgeworden sind (Abb. 14a und b). Morphologisch gut aussehender Pollen wird bei *allen* 446 Pflanzen ausgebildet, und zwar im Durchschnitt 16%. Eine geringe morphologische Variabilität (Größenunterschiede) in der Ausbildung der Staubblätter mag vorhanden gewesen sein. Ganz im Gegensatz dazu ist die Ausbildung der Stamina bei den *vesca* × *orientalis*-*Bastarden* durch eine tiefgreifende Variabilität gekennzeichnet. Hier sind sehr deutlich morphologische Unterschiede in der Ausbildung der Stamina der einzelnen Pflanzen festzustellen. Sehr schmale, schmächtige, stark eingedellte Antheren, die dunkelolivbraun bis hellgelb gefärbt sind, werden in der Mehrzahl der Fälle ausgebildet (s. Abb. 7g). Sie enthalten stets 100% völlig verklumpten, verquollenen schlechten Pollen. Einige Pflanzen besitzen normal ausgebildete gelbe Antheren. Sie bilden aber auch größtenteils schlechten Pollen aus; in einigen Fällen konnten jedoch 3—5% gute Pollenkörner ausgezählt werden. Pollen wird von *allen* Pflanzen ausgebildet.

Eine Erklärung dieser Tatsachen ist schwierig. Die unterschiedliche Ausbildung der Stamina, die zweifellos genetisch bedingt ist, kann nur auf Faktoren der *Fr. orientalis* zurückgeführt werden, wo die Ausbildung der Antheren und besonders die Länge der Filamente erblich variiert. Es scheint so, als ob diese Faktoren für die grundsätzliche Geschlechtsbestimmung nicht von Bedeutung sind; denn eine Entscheidung männlich oder weiblich konnte durch diese Variationen in keinem Fall erreicht werden. Auch wird auf die geringe phänologische Auswirkung dieser Faktoren bei den Bastarden *viridis* × *orientalis* verwiesen.

In der morphologischen Ausbildung der Receptaculi und der ♀-Geschlechtsorgane ließen sich keine besonderen Unterschiede zwischen den F_1-Nachkommenschaften *vesca* × *orientalis* und *viridis* × *orientalis* feststellen. Eine Variation in der Größenausbildung der Receptaculi konnte in beiden Nachkommenschaften beobachtet werden. Die Durchsicht nach dem Abblühen ergab, daß in der F_1 *viridis* × *orientalis* von 446 Pflanzen 36 = 8% (1950) und von 422 Pflanzen 37 = 8,7% (1951) Ansatz gehabt haben. Im ganzen haben also 11% der Bastarde Ansatz gehabt. Die fast gleiche Zahl von Ansatzpflanzen in beiden Jahren könnte leicht zu der Annahme führen, daß diese Ansatzpflanzen besonders genetisch determiniert seien. Tabelle 11, S. 393 gibt jedoch die Auskunft, daß nur 24 Pflanzen beide Jahre hintereinander Ansatz hatten, während 12 und 13 Pflanzen in jedem Jahr andere waren. Es ist statistisch sichergestellt, daß der Ansatz an den 24 Pflanzen in beiden Jahren nicht rein zufällig war. Daher muß vielleicht doch mit einer besonderen genetischen Determinierung der Ansatzpflanzen gerechnet werden. Es wird dabei an Fertilitätsfaktoren gedacht, die ohne Einfluß auf die grundlegende Geschlechtsbestimmung sind. Die Penetranz dieser Fertilitätsfaktoren scheint von den verschiedensten inneren und äußeren Faktoren abhängig zu sein, wie einmal aus der variablen Ansatzbildung an jeder Pflanze hervorgeht und weiterhin daraus, daß die Hälfte aller Ansatzpflanzen nicht in beiden Jahren angesetzt hat.

Die gleiche Problematik liegt den Ansatzverhältnissen der F_1 *vesca* × *orientalis* zugrunde. Es wurde ebenfalls eine variable Ausbildung der Receptaculi an den einzelnen Pflanzen beobachtet. Abweichend ist nur die geringe Zahl von An-

satzpflanzen, 3,1 und 4,9 % (vgl. Tabelle 3, S. 381), und die sehr wenigen gut ausgebildeten Nüßchen. Die Verteilung der Ansatzpflanzen auf die 2 Beobachtungsjahre ist so, daß nur eine Pflanze beide Jahre und dazu in jedem Jahr 4 andere Pflanzen Ansatz ausgebildet haben (vgl. Tabelle 4, S. 382). Die Deutung dieser Tatsachen ist die gleiche, wie sie für die Bastarde der Kreuzung *viridis* × *orientalis* gegeben wurde.

Die reziproke Kreuzung *orientalis* × *viridis* ergab 3 ♀♀ und 4 ♂♂. Sie sind wie typische diözische Pflanzen ausgebildet. Die ♀♀ besitzen Staminodien und weisen, wenn auch geringen, Ansatz auf. Die ♂♂ bilden in ihren gut entwickelten Antheren durchschnittlich 15 % morphologisch guten Pollen aus. Erstaunlich ist es, daß 2 von ihnen relativ sehr guten Ansatz hatten. Die 1jährige Beobachtung dieser 4 ♂-Pflanzen läßt noch keinen Schluß zu, ob alle 4 Pflanzen gleiche Anlagen besitzen, oder 2 zu 2 verschieden determiniert sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Geschlechtsausbildung in den Kreuzungen *vesca* × *orientalis* und *viridis* × *orientalis*, also in der Richtung zwittrig × eingeschlechtlich, bei allen Bastarden grundsätzlich gleich ist. Alle Pflanzen besitzen eine starke männliche Tendenz, welche sich in der Ausbildung mehr oder weniger guter Pollen offenbart. Weiterhin scheinen alle Pflanzen die Möglichkeit zu haben, bei Vorhandensein von zusätzlichen ♀-Fertilitätsfaktoren, auch ♀-Gonen normal auszubilden. Diese Möglichkeit wird jedoch nur in sehr wenigen Fällen realisiert. Wir bezeichnen die Bastarde als „Männchen mit Tendenz zur Zwittrigkeit". Die reziproke Kreuzung *orientalis* × *viridis* ergibt reine Weibchen und Männchen, die vielleicht auch als „Männchen mit Tendenz zur Zwittrigkeit" bezeichnet werden können, ungefähr im gleichen Verhältnis.

Was die Heterogametiefrage betrifft, so kann man auf Grund der gleichen Geschlechtsausbildung der Bastarde der Kreuzungen *vesca* × *orientalis* und *viridis* × *orientalis* sagen, daß die Gameten der ♂-Pflanzen von *orientalis* in bezug auf grundlegende Geschlechtsfaktoren gleich sein müssen (*homogamet*). Die zwittrigen Pflanzen von *vesca* und *viridis* bilden stets gleiche Gameten mit der gleichen zwittrigen Potenz aus. Die Kreuzung *orientalis* × *viridis* beweist, daß die ♀-Pflanzen von *orientalis* 2 verschiedene Sorten von Gameten bilden (*heterogamet*), solche, die die Entstehung von Weibchen ermöglichen, und solche, die die Ausbildung von Männchen mit Tendenz zur Zwittrigkeit ermöglichen.

d) Die Vorstellungen über die Geschlechtsbestimmung bei höheren Pflanzen.

Die Realisation der Geschlechter bei heterözischen, diözischen Pflanzen wird seit Correns (1907) und später Hartmann u. a. nach dem Schema einer Rückkreuzung des heterozygoten Bastards mit seinem rezessiven Elter erklärt. Es wird neben der, aber noch völlig unerklärten, sog. allgemeinen bipolaren Zweigeschlechtlichkeit (Hartmann) ein AG-Komplex angenommen, dessen Auswirkungen durch Realisatoren (F. v. Wettstein 1924), α und γ bei Correns oder F und M bei Hartmann, realisiert werden. Ursprünglich (Correns) wurde mit dem AG-Komplex die zu konstatierende bisexuelle Potenz aller Organismen, einschließlich der haploiden, zu erklären versucht. Unter der A-Potenz wurde die Fähigkeit verstanden, die ♂-Geschlechtsorgane auszubilden und unter der

G-Potenz die Fähigkeit zur Bildung der ♀-Geschlechtsorgane. Später hat Correns (1928) den AG-Komplex mit der Gesamtheit der Gene, die an der Ausbildung der männlichen und weiblichen Geschlechtsorgane beteiligt sind, gleich gesetzt. Hartmann (1943) schließt sich dieser Annahme nur bedingt an, indem er neben dem genetisch gekennzeichneten AG-Komplex die Möglichkeit für eine allgemein vorhandene, bisher nicht analysierte, bisexuelle Potenz der Organismen bzw. Zellen offen läßt. — Die angenommene Lokalisierung der Faktoren des AG-Komplexes in den Chromosomen eines jeden haploiden Chromosomensatzes und die damit verbundene mögliche bisexuelle Reaktionsfähigkeit jeder Zelle läßt sich, glaube ich, ohne weiteres mit der Tatsache der bisexuellen Potenz jeder Zelle und damit jedes Organismus in Übereinstimmung bringen. Von einer Erklärung des AG-Komplexes sind wir heute noch weit entfernt, obgleich wir ständig seine Realität, d. h. die in ihm zusammengefaßten Faktoren, konstatieren müssen. So hat sich in den meisten Fällen die Forschung, den AG-Komplex annehmend, mit der Aufdeckung und Lokalisation der geschlechtsbestimmenden Faktoren, den Realisatoren, beschäftigt. Eine Fülle von verschiedenen Geschlechtsbestimmungsmechanismen ist aufgedeckt worden, und man ist heutzutage abgeneigt, nach einem für alle höheren Pflanzen gemeinsamen Modus der Geschlechtsbestimmung zu suchen.

Goldschmidts Theorie der Geschlechtsbestimmung lehnt den AG-Komplex, wie ihn Correns und mit Einschränkungen auch Hartmann sieht, ab (1929). Nach seiner Theorie sind 2 Genpaare vorhanden, die durch ihr quantitatives Verhältnis imstande sind, ein System mit alternativer Reaktionsnorm nach der weiblichen oder männlichen Seite zu beeinflussen. v. Wettstein (1936) hat darauf hingewiesen, daß an sich zwischen beiden Theorien keine grundsätzlichen Unterschiede vorhanden sind (vgl. Hartmann 1947, S. 573). Seine Konzeption der Geschlechtsbestimmung ist ungefähr folgende. Es besteht ein Komplex von Geschlechtsanlagen mit alternativer Reaktionsnorm. Dieser liegt in den Autosomen und wird durch die Geschlechtsrealisatoren, welche in den Geschlechtschromosomen gelagert sind, alternativ beeinflußt. Er wird als AG-Komplex bezeichnet und deckt sich voll und ganz mit dem Komplex gleichen Namens bei Correns und dem genetischen System alternativer Reaktionsnorm Goldschmidts. Die Realisatoren können quantitativ oder qualitativ wirksam sein.

Die Ausbildung der Geschlechtsorgane der synözischen oder autözischen Pflanzen geschieht nach dem Modus der diplophänotypischen Geschlechtsbestimmung (Hartmann). Der grundlegende Unterschied in der Geschlechtsausbildung, gegenüber den heterözischen Pflanzen, besteht darin, daß hier nicht die gesamte Pflanze und damit jede Zelle durch einen besonderen Realisatorenmechanismus geschlechtlich determiniert ist. Die synözischen Pflanzen bilden auf Grund ihrer AG-Faktoren beide Geschlechtsorgane aus, und zwar entweder in derselben Blüte (Zwitter), in verschiedenen Blüten, die aber in ganz bestimmter Stellung zueinander stehen oder, besser gesagt, an erblich festgelegten Orten der Pflanzen gebildet werden (Monözisten z. B. *Zea Mays*), oder in verschiedenen Blüten, deren Bildung und Stellung an der Pflanze zufallsgemäß erfolgt (Monözisten z. B. *Curcurbita pepo*). Jede somatische, wie auch jede Keimzelle der synözischen Pflanzen besitzt die gleiche gemischtgeschlechtliche Potenz. Besondere Gene, *zz*, nahm Correns noch an, die für die zeitliche und örtliche Aus-

bildung der Geschlechtsorgane verantwortlich sein sollen (das gleiche nimmt auch Hartmann 1943, S. 235 an). Die eben behandelten Pflanzen werden als primäre Zwitter den sekundären Zwittern gegenübergestellt. Unter sekundären Zwittern versteht man solche Zwitter, deren Zwittrigkeit durch Geschlechtsrealisatoren von gleicher Stärke bedingt wird. Sie werden als von heterözischen Pflanzen abgeleitet angesehen. Demgegenüber ist von Goldschmidt (1929) auch die Ausbildung der primären Zwittrigkeit auf das Nebeneinanderwirken von geschlechtsbestimmenden Faktoren (F und M), beide von gleicher Stärke, zurückgeführt worden. Dieser Theorie hat man, wegen der nie nachgewiesenen F- und M-Faktoren bei Zwittern, lange ablehnend gegenübergestanden. Hartmann (1943) glaubt aber heute auf Grund von Versuchen von Hüttig, Moewus und Greis über Austauschvorgänge der F- und M-Faktoren bei *Glomerella*, *Polytoma*, *Sordaria*, *Protosiphon* und *Chlamydomonas*, die hier nachgewiesenen F- und M-Faktoren auch auf die Geschlechtsbestimmung nach dem diplophänotypischen Modus, also auf die primär zwittrigen Blütenpflanzen übertragen zu dürfen. Die Gemischtgeschlechtlichkeit soll also durch F- und M-Faktoren (Realisatoren) von gleicher (ausbalanzierter) Stärke bewirkt werden. Damit kommt Hartmann der Goldschmidtschen Anschauung über die Geschlechtsausbildung bei Zwittern weitgehend entgegen.

In letzter Zeit sind Stimmen laut geworden, die den klassischen Bezeichnungsweisen ablehnend gegenüberstehen. Zum Teil mit Recht, denn den ursprünglichen Bezeichnungen wurden Wirkungen zugeschrieben, die den heutigen Auffassungen nicht mehr entsprechen; oder den ursprünglichen Bezeichnungsweisen werden, je nach dem Stand des Wissens, modifizierte Bedeutungen zugeschrieben, die noch bei den einzelnen Autoren verschieden sein können. Dies muß notgedrungen zu einer Undurchsichtigkeit führen. Westergaard (1948) betont, daß eine besondere Bezeichnung, wie die des AG-Komplexes, nur verwirrend wirkt. Tatsächlich dürfte es schwierig sein für den AG-Komplex eine eindeutige Definition zu geben (vgl. dazu Hartmann 1943, S. 360ff.). Würde man nach Correns (1928) unter dem AG-Komplex die Gesamtheit der Gene verstehen, die an der Ausbildung der Geschlechtsorgane beteiligt sind, so gäbe es gewiß Unstimmigkeiten darüber, welche Gene bzw. Merkmale noch in den AG-Komplex einbezogen werden sollen und welche nicht. Es soll in keiner Weise der große heuristische Wert des AG-Komplexes geleugnet werden, wenn vorgeschlagen wird, den AG-Komplex künftig als Ausdruck irgendwelcher Beteiligung an der Geschlechtsausbildung fallen zu lassen. Es besteht keine Veranlassung den Genen, die die Ausbildung der Geschlechtsorgane bewirken, eine Sonderstellung einzuräumen. Genau wie jedes andere Merkmal bewirkende Gen dürften sämtliche Gene, die die morphologische und physiologische Ausbildung der Geschlechtsorgane und deren zeitliche und örtliche Anlage bewirken, in jedem haploiden Chromosomensatz vorhanden sein. Diese Gene stellen sehr wahrscheinlich auch die materielle Grundlage der allgemeinen bisexuellen Potenz dar. Sie sind gleichbedeutend mit den "basic sex genes" oder "promoting genes" (wobei die Bezeichnung promoting genes—fördernde Gene—ungünstig gewählt ist) von Westergaard (1948). Jede besondere Bezeichnung der Gesamtheit der Gene, die die Geschlechtsausbildung ermöglichen, dürfte aber überflüssig sein. Es ergibt sich somit ganz von selbst die Eliminierung des unbestimmten Genkomplexes

(AG-Komplex) aus den Erbformeln bei Geschlechtsbestimmungsfragen, wie es von Knapp (1943) berechtigterweise gefordert worden ist.

Die Geschlechtsausbildung bei heterözischen Pflanzen unterscheidet sich von der der monözischen Pflanzen dadurch, daß bei ersteren Geschlechtsrealisatoren vorhanden sind, als "deciding genes", im "trigger mechanism" vereinigt, von Westergaard (1948) bezeichnet. Die Wirkungsweise der Geschlechtsrealisatoren besteht darin, daß sie in die Ausbildung des einen Geschlechts hemmend eingreifen. Diese Hemmung kann man sich so vorstellen, daß ein Gen (oder mehrere) in einer Genwirkkette, wie wir sie z. B. durch Moewus bei der Bildung der Gamone und Termone von *Chlamydomonas* kennengelernt haben, die letzten Endes zur Ausbildung eines normalen Geschlechtsorgans führen würde, mutiert ist, und so ein Zustand geschaffen worden ist, durch den die normale Ausbildung des Geschlechtsorgans abgeändert wird. Grundsätzlich könnte jedes Gen einer Wirkkette durch Mutation zu einem Realisator werden. Wo dieses Gen (oder Gene) entwicklungsgeschichtlich „eingreift", darüber kann uns die Entwicklung der nicht determinierten Organe bei Diözisten Anhaltspunkte geben. Während bei *Melandrium album*-♀♀ nur winzige Rudimente von ♂-Geschlechtsorganen ausgebildet werden, der „Eingriff" des Realisators also wahrscheinlich schon sehr frühzeitig stattfindet, werden in den ♂-Geschlechtsorganen der *Fr. orientalis*-♀♀ noch PMZ angelegt, die sogar noch ins frühe Prophasestadium eintreten. Die Auswirkung dieser Gene konnte bei *Fragaria* so gut studiert werden, weil neben rein diözischen auch rein zwittrige Arten vorhanden sind.

Wenn angenommen wird, daß alle Gene zur Ausbildung der Geschlechtsorgane in jedem haploiden Chromosomensatz vorhanden sind, so ist damit die Basis zur Ausbildung beider Geschlechtsorgane bei den synözischen Pflanzen gegeben. Ich sehe keinen Grund bei diesen Pflanzen mit ausbalanzierten Geschlechtsrealisatoren zu rechnen, wie es Hartmann (1943 und 1947) auch für die Pflanzen der diplophänotypischen Geschlechtsbestimmung vorschlägt. Bei den ursprünglichen Zwittern befinden sich alle Gene der hypothetischen Genwirkketten in dem Zustand, in dem die normale Ausbildung der beiden Geschlechtsorgane gewährleistet ist. Von Geschlechtsrealisatoren können wir erst dann sprechen, wenn diese normale Ausbildung zugunsten eines Geschlechtes verschoben ist.

e) Die Einordnung der Versuchsergebnisse bei Fragaria in die Vorstellungen über Geschlechtsbestimmung und -vererbung.

Die experimentellen Untersuchungen an *Fragaria*, soweit sie sich mit Geschlechtsfragen befassen, haben noch nie die Möglichkeit gegeben, irgendwelche exakten Angaben über die Stärke oder Valenz der Realisatoren, ihre Anzahl und Lokalisation zu machen. Einzig ist das Bestehen der ♀-Heterogametie bei *Fr. moschata* und den oktoploiden heterözischen Arten immer wieder bestätigt worden [Richardson (1914), Valleau (1923), Correns (1926), Chodat (1933), Lilienfeld (1933 und 1936) und Schiemann (1931, 1937, 1943)]. Das Fehlen von exakt auswertbaren Versuchsergebnissen ist darauf zurückzuführen, daß alle Kreuzungen zwischen zwittrigen und heterözischen Arten unter weitgehender Bastardsterilität leiden, denn es handelt sich, außer bei den intraoktoploid-Kreuzungen, immer um Kreuzungen zwischen Angehörigen verschiedener Polyploidiestufen. Die oktoploiden Arten sind aber für derartige Kreuzungen

wiederum, ihrer hochgradigen Heterozygotie wegen, denkbar ungeeignet. Weiterhin fehlen größtenteils die, die Behauptungen beweisenden, F_2en und Rückkreuzungen.

Alle beschriebenen Mängel haften auch den hier diskutierten Kreuzungen an. Eine genaue Analyse der diözischen tetraploiden *Fr. orientalis* wird hoffentlich durch die Kreuzungen zwischen *Fr. orientalis* und künstlich hergestellten zwittrigen tetraploiden *Fr. vesca* möglich sein. Diese Untersuchungen sind bereits eingeleitet.

Auf Grund der Versuchsergebnisse ist es nicht möglich endgültige Vorstellungen über die Geschlechtsbestimmung und -vererbung bei *Fragaria* zu entwickeln. Auch für die an den beschriebenen Kreuzungen beteiligten Arten läßt sich dies ohne hypothetische Annahmen nicht durchführen. Wir wollen uns deshalb auf die Schilderung der Tatsachen beschränken.

Wie oben genauer ausgeführt, bilden die Weibchen von *Fr. orientalis* zwei verschiedene Sorten von Gameten aus. Ein Teil der Gameten muß die Möglichkeit besitzen mit den gemischtgeschlechtlichen Gameten von *Fr. viridis* triploide und den stets gleichen ♂-Gameten von *orientalis*, tetraploide *reine* Weibchen zu entwickeln. Alle ♀- wie auch ♂-Gameten der beiden zwittrigen Arten *Fr. vesca* und *Fr. viridis* besitzen stets die gleiche gemischtgeschlechtliche Potenz. Der andere Teil der ♀-Gameten von *orientalis* bildet mit den ♂-Gameten von *orientalis* tetraploide *reine* Männchen aus, die nie Ansatz haben. Mit den Gameten von *viridis* ergibt dieser Teil der ♀-Gameten von *orientalis* „Männchen mit Tendenz zur Zwittrigkeit". Diese Männchen bilden alle Pollen aus, davon einen gewissen Prozentsatz guten Pollen, und sie sind teilweise imstande normale ♀-Gonen und nach Befruchtung keimfähige Nüßchen auszubilden. Für die hier in Frage kommenden 4 Bastarde wird eine gleiche Determinierung angenommen (s. S. 398). Aus der reziproken Kreuzung *viridis* × *orientalis* entstehen lauter gleiche Pflanzen, ebenfalls „Männchen mit Tendenz zur Zwittrigkeit". Auch für diese Bastarde kann eine gleiche grundlegende Determinierung angenommen werden. Man kann also vermuten, daß die Gameten der Männchen von *orientalis* mit dem einen Teil der Gameten der Weibchen von *orientalis* in den geschlechtsbestimmenden Faktoren übereinstimmen. Die Bastarde der Kreuzung *vesca* × *orientalis* können als „Männchen mit Tendenz zur Zwittrigkeit" bezeichnet werden und zeigen eine erheblich schlechtere Ausbildung der Geschlechtsorgane als die der Kreuzung *viridis* × *orientalis*. Dies kann einmal auf die Erbanlagen für die Ausbildung der Geschlechtsorgane von *vesca* selbst zurückgeführt werden, oder auf eine mangelnde Harmonie der Erbanlagen von *vesca* und *orientalis*, oder auf eine plasmatische Unverträglichkeit. Die deutlich schlechtere Harmonie zwischen den *orientalis*- und *vesca*-Erbanlagen ist um so erstaunlicher, als wir oben gesehen haben, daß auf Grund der morphologischen Merkmale *orientalis* der *vesca*-Entwicklungsreihe zugeordnet werden muß.

Zusammenfassung.

1. Es werden die diploiden Arten *Fr. vesca* und *Fr. viridis* und die tetraploide Art *Fr. orientalis* in ihrer Morphologie und Geschlechtsausbildung eingehend beschrieben. Die beiden diploiden Arten sind Zwitter, die tetraploide ist diözisch. Die Entwicklung der Geschlechtsorgane ist an histologischen Schnitten verfolgt

worden. Es hat sich gezeigt, daß bei *orientalis*-♀♀ in den Staminodien noch PMZ gebildet werden, die aber nicht mehr zur Reduktionsteilung kommen; bei den ♂♂ werden in den ♀-Organen Archesporzellen angelegt, die die Reduktionsteilung noch durchführen können, dann aber degenerieren. Die cytologischen Untersuchungen ergaben eine normale Bivalentenbildung bei den diploiden Arten, während bei *Fr. orientalis* bis zu 4 Tetravalente beobachtet wurden. Für alle 3 Arten werden genaue Angaben über die geographische Verbreitung gemacht und in einer Karte zusammengefaßt.

2. Die Bastarde der Kreuzungen *vesca* × *orientalis* und *viridis* × *orientalis* sind triploid und im allgemeinen intermediär ausgebildet. Die Geschlechtsausbildung ist, trotz einer geringen Variabilität in der Ausbildung der Geschlechtsorgane selbst, einheitlich. Alle Pflanzen sind Männchen mit zwittriger Tendenz. Die reziproke Kreuzung *orientalis* × *viridis* unterscheidet sich nur in der Geschlechtsausbildung der Bastarde, es werden Weibchen und Männchen mit zwittriger Tendenz im ungefähren Verhältnis von 1:1 ausgebildet. Damit ist die Heterogametie des ♀-Geschlechts der *Fr. orientalis* bewiesen.

3. Die cytologischen Untersuchungen der Bastarde erbrachten den Beweis, daß *Fr. orientalis* autotetraploid ist und die Genome denen von *Fr. vesca* und *Fr. viridis* homolog sind. Es werden in den triploiden Bastarden stets 7 Bivalente oder bis zu 4 Trivalente und 3 Bivalente gebildet. Die übrigen Chromosomen sind als Univalente vorhanden. Ein weiterer Beweis für die Autotetraploidie der *Fr. orientalis* und die Homologie der *vesca*- und *viridis*-Genome ist der tetraploide Bastard *vesca* × *orientalis* mit seiner normalen Bivalentenbildung (stets 14_{II}).

4. Hauptsächlich auf Grund von morphologischen Merkmalen werden 2 phylogenetische Entwicklungsreihen für die Gattung *Fragaria* aufgestellt, deren Ausgangspunkte einmal eine *vesca*-ähnliche Form, das andere Mal eine *viridis*-ähnliche Form sein müssen. Der erste Evolutionsschritt war in beiden Entwicklungsreihen die Bildung von Tetraploiden. Einher ging damit der Übergang von der Zwittrigkeit zur Diözie. *Fr. orientalis* ist der *vesca*-Entwicklungsreihe zuzuordnen. Die gesamte Artbildung in der Gattung *Fragaria* ist wahrscheinlich auf autopolyploider Basis vor sich gegangen. Für die Entstehung der *Fr. moschata* wird eine Kreuzung zwischen Angehörigen der beiden Entwicklungsreihen angenommen. Der Anschluß der oktoploiden Arten ist bisher nur bedingt möglich.

5. Auf Grund der Untersuchungen über die Geschlechtsausbildung der reinen Arten und der Bastarde können über Vorhandensein, Lokalisation und Stärke von geschlechtsbestimmenden Faktoren noch keine bestimmten Angaben gemacht werden.

Diese Arbeit wurde in den Jahren 1948—1951 im Institut für Geschichte der Kulturpflanzen, Berlin-Dahlem, durchgeführt. Meiner verehrten Lehrerin, Frau Prof. Dr. E. Schiemann, danke ich herzlich für ihre wertvollen Anregungen, für die Überlassung des Versuchsmaterials und für ihre stets gleich gebliebene, freundliche Anteilnahme und Förderung meiner Arbeiten. Herrn Prof. Dr. K. Noack gilt mein Dank für seine wohlwollende Unterstützung meiner Arbeit. Für wertvolle Hilfe bei der Zusammenstellung der geographischen Verbreitung danke ich Herrn Prof. Dr. Markgraf-München und Herrn Prof. Dr. Löve-Winnipeg.

Literatur.

ARCANGELI, G.: Flora Italiana, S. 219, 1882. — ASCHERSON, P., u. P. GRAEBENER: Synopsis der mitteleuropäischen Flora, Bd. 6 S. 649—661. 1900—1905. — BENTHAM, G., and J. D. HOOKER: The british flora, S. 135. 1896. — BERG, K. H. v.: Autotetraploidie bei *Hordeum bulbosum*. Züchter 8, 151 (1936). — BLAKESLEE, A. F.: Cryptic types in *Datura* due to chromosomal interchange and their geographical distribution. J. Hered. **20**, 177 (1929). — The species problem in *Datura*. Proc. VI. int. Congr. Genetics **1**, 104 (1932). — BREIDER, H.: Der Geschlechtsbestimmungsmechanismus in der Artdifferenzierung. Biol. Zbl. **68**, 32 (1949). — BURNAT, E.: Flore du Alpes Maritimes, Bd. 2, S. 269—271. 1896. — CHODAT, F.: Génétique des fraisiers. 5. Hérédité du sexe. Arch. Sci. physiol. Suppl. **1933**, 158. — CORRENS, C.: Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechtes nach neuen Versuchen mit höheren Pflanzen. Berlin: Gebrüder Borntträger 1907. — Über Fragen der Geschlechtsbestimmung bei höheren Pflanzen. Z. Vererbungslehre **41**, 5 (1926). — Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. In Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. II C, S. 138. 1928. — COSTE, L. H.: Flore de la France, Bd. II, S. 26—27. 1937. — CUGNAC, A. DE: Un cas remarquable de pléiotropic dans une hybridation de graminées. C. r. Soc. Biol. Paris **132**, 404 (1939). — Conséquences génétiques et phylétiques du croisement de deux graminées. C. r. Acad. Sci. Paris **209**, 696 (1939). — CZECZOTT, H.: A contribution of the knowledge of the flora and vegetation of Turkey, S. 180 . 1938. — DARLINGTON, C. D.: Recent advances in cytology. London 1932. — DOBZHANSKY, TH.: Die genetischen Grundlagen der Artbildung. Übertragen von W. LERCHE. Jena: Gustav Fischer 1939. S. 252. — ERNST, H.: Cytogenetische Untersuchungen an haploiden Pflanzen von *Antirrhinum majus* L. Z. Bot. **35**, 161 (1940). — FEDOROVA, N. J.: Crossibility and phylogenetic relations in the main european species of *Fragaria*. C. r. [Doklady] Acad. Sci. URSS **52**, 545 (1946). — FEDSCHENKO, B. A.: Flora Turkestanicae, S. 35—36. 1906. — FEDSCHENKO, B. A., u. I. M. KRASCHENINNIKOF: Die Pflanzen des Turgan-Gebietes, S. 129. 1910. — GOLDSCHMIDT, R.: Geschlechtsbestimmung im Tier- und Pflanzenreich. Biol. Zbl. **49**, H. 11 (1929). — GRÖNTVED, J.: The botany of Iceland, Bd. 4, Teil 1, S. 273. 1942. — HARTMANN, M.: Die Sexualität. Jena: Gustav Fischer 1943. 426 S. — Allgemeine Biologie. Jena: Gustav Fischer 1947. 869 S. — HAYEK, A.: Prodromus florae peninsulae Balcanicae. Rep. spec. nov. regni veg. Beih. **30**, 1, 670 (1924). — HEGI, G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Bd. 4/2, S. 895—907. 1922. — HEILBORN, O.: Aneuploidy and polyploidy in *Carex*. Sv. bot. Tidskr. **26**, 137 (1932). — HJELT, H.: Conspectus florae Fennicae. Acta Soc. Fauna et Flora Fenn. **5** (1888). — HULTÉN, E.: Atlas över växternas utbredning i norden. Stockholm 1950. — ICHIJIMA, K.: Cytological and genetic studies on *Fragaria*. Genetics **11**, 590 (1926). — Studies on the genetics of *Fragaria*. Z. Vererbungslehre **55**, 300 (1930). — JØRGENSEN, C. A.: The experimental formation of heteroploid plants in the genus *Solanum*. J. Genet. **19**, 133 (1928). — KIHARA, H., u. T. ONO: Chromosomenzahlen und systematische Gruppierung der *Rumex*-Arten. Z. Zellforschg **4**, 475 (1926). — KLINGE, J.: Flora von Est-Liv- und Curland, S. 564—565. 1882. — KNAPP, E.: Bemerkungen zu Geschlechtsbestimmungsfragen. Flora (Jena) N. F. **37**, 139 (1943). — KOCH, L.: Mikrotechnische Mittheilungen. III. Jb. Bot. **29**, 38 (1896). — KOMAROV, D. L.: Flora der URSS. *Rosaceae*, Subfam. III *Rosoideae*, bearb. von JUZEPEZUK. Bd. 10, S. 59—65. 1941. — KOSTOFF, D.: Biodynamica (Normandy, Mo.) 51. Aus G. L. STEBBINS jr.: Adv. Genetics **1** (1947). — DE LATTIN, G.: Farbgene und Geschlechtsbestimmung in der Gattung *Tracheoniscus* (Isop.). Verh. dtsch. zool. Ges. **1950**, 31. — Über die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts einiger *Oniscoiden* (Crust., Isop.). Z. Vererbungslehre **84**, 1 (1951). — LEVAN, A.: Studies on the meiotic mechanism of haploid rye. Hereditas (Lund) **28**, 177 (1942). — LILIENFELD, F. A.: Karyologische und genetische Studien an *Fragaria*. Jap. J. of Bot. **6**, 425 (1933). — Karyologische und genetische Studien an *Fragaria*. II. Jap. J. of Bot. **8**, 119 (1936). — Karyologische und genetische Studien an *Fragaria*. III. Mem. Coll. Agric. Kyoto Imp. Univ. **1936**, Nr 38, 1. — LJUNGDAHL, H.: Über die Herkunft der in der Meiosis konjugierenden Chromosomen bei *Papaver*-Hybriden. Sv. bot. Tidskr. **18**, 279 (1924). — LOSINA-LOSINSKAJA, A.: Révision critique du genre *Fragaria*. Bull. Jard. Bot. USSR **25**, 47 (1926). — LOWE, R. T.: A manual flora of Madeira, S. 246. 1868. — MANGELSDORF, A. J., and E. M. EAST: Studies of the genetics of *Fragaria*. Genetics **12** (1927). — MICHAILOV, I. G.: Die Erdbeere. [Russisch]

Moskau 1947. — Moewus, F.: Über Mutationen der Sexual-Gene bei *Chlamydomonas*. Biol. Zbl. **70**, 597 (1940). — Müntzing, A.: The evolutionary significance of autopolyploidy. Hereditas (Lund) **21**, 263 (1936). — Müntzing, A., u. R. Prakken: The mode of chromosome pairing in *Phleum* twins with 63 chromosomes and its cytogenetic consequences. Hereditas (Lund) **26**, 463 (1940). — Murray, M. J.: Colchicine induced tetraploids in dioecious and monoecious species of the Amaranthaceae. J. Hered. **31**, 477 (1940). — Petrov, D. F., and D. A. Tukan: On the heterozygosity of the ♂ sex in *Fragaria orientalis* Los. C. r. [Doklady] Acad. Sci. URSS **16**, 459 (1937). — Pitard, J., u. L. Proust: Les iles Canaries-Flore de l'Archipel, S. 180. 1908. — Powers, L.: Meiotic studies of crosses between *Fragaria ovalis* and *Fr. ananassa*. J. Agricult. Res. **69**, 435 (1944). — Renner, O.: Artbastarde bei Pflanzen. In Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. II A, S. 161. 1929. — Richardson, C. W.: A preliminary note on the genetics of *Fragaria*. J. Genet. **3**, 171 (1914). — Rosanova, M. A.: Artbastardierung innerhalb der Gattung *Rubus* und *Fragaria* im Zusammenhang mit der Frage der Formenbildung. Bull. Acad. Sci. URSS **1938**, Nr 1, 677. — Experimentelle Grundlagen der Pflanzensystematik. Kap. 5 *Fragaria*. [Russisch]. Moskau: Verlag Acad. Wiss. SSSR 1946. — Rudloff, C. F.: Entwicklungsphysiologische Studien in der Gattung *Fragaria*. I. Gartenbauwiss. **3**, 79 (1930). — Rydberg: North American Flora, Bd. **22**, Teil 4, S. 356—365. 1908. — Schiemann, E.: Geschlechts- und Artkreuzungsfragen bei *Fragaria*. Bot. Abh. **18** (1931). — Artkreuzungen bei *Fragaria*. II. Z. Vererbungslehre **73**, 375 (1937). — Artkreuzungen bei *Fragaria*. III. Flora (Jena) N. F. **37**, 166 (1943). — Artbildung in der Gattung *Fragaria*. VII. Internat. Bot. Congr. 1950. — Smith, L.: Haploidy in Einkorn. J. Agricult. Res. **73**, 291 (1946). — Staudt, G.: Die geographische Verbreitung der Gattung *Fragaria* und der Versuch einer phylogenetischen Erklärung. Diplomarbeit Humboldt-Universität Berlin 1950. — Über Fragen der phylogenetischen Entwicklung einiger Arten der Gattung *Fragaria*. Züchter **21**, 222 (1951). — Stebbins jr., G. L.: Types of polyploids: their classification and significance. Adv. Genetics **1**, 403 (1947). — Stone, L. H. A., and K. Mather: The origin and behavior of chiasmata IV. Diploid and triploid *Hyacinthus*. Cytologia **4** (1932). — Sturtevant, A. H., and Th. Dobzhansky: Inversions in the third chromosome of wild races of *Drosophila pseudoobscura*, and their use in the study of the history of the species. Proc. Nat. Acad. Sci. **22**, 448 (1936). — Troll, C.: Das Pflanzenkleid des Nanga-Parbat. Wiss. Veröff. dtsch. Mus. Länderkde, N. F. **7**, 151 (1939). — Upcott, M.: The genetic structure of *Tulipa*. Meiosis in polyploids. J. Genet. **37**, 303 (1939). — Valleau, W. D.: The inheritance of flower types and fertility in the strawberry. Amer. J. Bot. **10**, 259 (1923). — Westergaard, M.: Studies on cytology and sex determination in polyploid forms of *Melandrium album*. Dansk. bot. Arkiv **10**, 131 (1940). — The relation between chromosome constitution and sex in the offspring of triploid *Melandrium*. Hereditas (Lund) **34**, 257 (1948). — Wettstein, F. v.: Über Fragen der Geschlechtsbestimmung bei Pflanzen. Naturwiss. **12**, 761 (1924). — Gesichertes und problematisches zur Geschlechtsbestimmung. Ber. dtsch. bot. Ges. **54**, 23 (1936). — Willkomm, M.: Prodromus Florae Hispanicae. 1861. — Yarnell, S. H.: Genetics and cytological studies on *Fragaria*. Genetics **16**, 422 (1931). — A study of certain polyploid and aneuploid forms in *Fragaria*. Genetics **16**, 455 (1931).

Dr. Günter Staudt, Institut für Geschichte der Kulturpflanzen, Deutsche Forschungshochschule, Berlin-Dahlem.

Band 84 **Inhalt** 4. Heft

Seite

Harte, C., und B. Bissinger, Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung der durch die Faktoren *fr* und *ster* bedingten Pollensterilität bei *Oenothera*. Mit 14 Textabbildungen 251

Pipkin, S. B., Seasonal fluctuations in *Drosophila* populations at different altitudes in the Lebanon Mountains. With 6 Figures 270

Leupold, U., und N. H. Horowitz, Über Temperaturmutanten bei *Escherichia coli* und ihre Bedeutung für die „Ein Gen — Ein Enzym"-Hypothese. Mit 3 Textabbildungen 306

Grob, H., Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen, dem Darmtraktus und den Imaginalscheiben einer Letalrasse (*lgl*) von *Drosophila melanogaster*. Mit 21 Textabbildungen 320

Staudt, G., Cytogenetische Untersuchungen an *Fragaria orientalis* Los. und ihre Bedeutung für Artbildung und Geschlechtsdifferenzierung in der Gattung *Fragaria* L. Mit 14 Textabbildungen und 1 Karte 361

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aufnahmebedingungen.

Der Inhalt der Arbeit soll dem Gebiet der allgemeinen oder speziellen Genetik, der Cytogenetik, der Grenzfragen der Entwicklungsphysiologie und Genetik, der biophysikalischen Grundlagen der Genetik oder der experimentellen Evolutionsforschung angehören. Arbeiten aus den angewandten Gebieten der Tier- und Pflanzenzüchtung oder der Humangenetik werden nur aufgenommen, wenn die Ergebnisse auch für die Grundlagenforschung wichtig sind.

Die eingereichten Manuskripte müssen völlig druckfertig sein. Der Verlag übernimmt **Korrekturkosten** nur bis zur Höhe von 10% der Satzkosten. Die Manuskripte sind so kurz und übersichtlich wie möglich zu fassen. Außer der deutschen Sprache kann auch eine der anderen drei Kongreßsprachen verwendet werden.

Die für Petitsatz vorgesehenen Manuskriptteile sind am Rande mit einem senkrechten Strich und Hinzufügung des Buchstabens p zu kennzeichnen.

Autorennamen sind im Manuskript mit großen Buchstaben zu schreiben oder doppelt zu unterstreichen.

Lateinische Tier- und Pflanzennamen, Gensymbole und mathematische Formeln sollen *kursiv* gedruckt werden und sind im Manuskript gewellt zu unterstreichen, ebenso weitere Hervorhebungen im laufenden Text. Gesperrter Druck wird nicht ausgeführt.

Literaturhinweise sind im Text durch den Namen des Autors mit der Jahreszahl der Veröffentlichung, z. B. Sax 1947, anzuführen; am Schluß der Arbeit ist ein nach Autorennamen alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis zu geben, welches Titel der Arbeit, Titel der Zeitschrift, Bandzahl, Seitenzahl und Jahreszahl enthält; z. B.: Sax, K.: Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. Genetics **32**. 75 (1947).

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, zu bevorzugen sind durch Strichätzung reproduzierbare Figuren. Diagramme sind als Bleistiftzeichnungen einzureichen. Abbildungsbeschriftungen sind ebenfalls nur mit Bleistift anzugeben. Die Abbildungen sind getrennt vom Text auf besonderem Bogen einzureichen. Die Abbildungsunterschriften gehören dagegen zum Text und sind dem Manuskript beizugeben.

Allgemeine Physiologie

Von **Albrecht Bethe**, Professor emeritus an der Universität Frankfurt a. M. Mit 159 Abbildungen. VI, 294 Seiten. 1952. Ganzleinen DM 29.70

Inhaltsübersicht: Definition des Organismus. — Die allgemeinen Grundzüge des Stoffabbaus und der Energieproduktion. — Der Gewinn verwertbarer Energie und der Kreislauf der lebenswichtigsten Elemente in der Natur. — Die Lebensbedingungen. — Das Prinzip der Arbeitsteilung, primitivste Lebewesen, freilebende Zellen, Zellkolonie, Zellenstaat und „Individuenstaat". — Allgemeine Eigenschaften der Protoplasten. — Das Süßwasser, die Körperflüssigkeiten und der Mineralbestand der Zellen. — Die Abhängigkeit einiger Fermente vom p_H. — Die Zweckmäßigkeitslehre oder Teleologie. — Energiewandlungen und Energieäußerungen. — Reizeffekte und Automatie. — Mechanische Leistungen. — Allgemeine Physiologie der Bewegungen und ihrer Mittel. — Muskeln. — Vermittler zwischen den Teilen eines Organismus. — Automatie, Rhythmik und Periodik. — Sachverzeichnis.

Mikroskopische und chemische Organisation der Zelle

2. Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie am 6. und 7. April 1951 in Mosbach (Baden).

Mit 25 Textabbildungen. IV, 102 Seiten. 1952. Steif geheftet DM 9.60

Inhaltsverzeichnis: **Mikroskopische und submikroskopische Bauelemente der Zelle.** Von F. E. Lehmann-Bern. — **Lokalisation der Fermente und Stoffwechselprozesse in den einzelnen Zellbestandteilen und deren Trennung.** Von K. Lang-Mainz. — **Nucleoprotamine und Nucleoproteide.** Von K. Felix-Frankfurt a. M. — **Makromolekulare Struktur der Nucleinsäure.** Von G. Schramm-Tübingen. — **Zellkernäquivalente der Bakterien.** Von G. Piekarski-Bonn.

Einer der modernsten Aspekte der Biochemie ist die Verknüpfung der Erkenntnisse über den chemischen und morphologischen Bau einerseits, die chemische Leistung der Zelle und der einzelnen Zellbestandteile andererseits. Ihr war das „Mosbacher Colloquium 1951" der Gesellschaft für Physiologische Chemie gewidmet. Die Ergebnisse werfen so viel Licht auf die erzielten Fortschritte wie die durch sie neu aufgeworfenen Problemstellungen, daß mit der Veröffentlichung einem vielfach geäußerten Wunsch entsprochen wird.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen drei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin - Göttingen - Heidelberg, bei.

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. Printed in Germany.